

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES

PAR

Sylvanie GUINAND

Licenciée ès Sciences Physiques

1^{re} THÈSE. — Contribution à l'étude des propriétés
physico-chimiques de l'acide ascor-
bique.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 20 Novembre 1943, devant la Commission d'examen

MM. E. DARMOIS, *Président.*

CABANNES	} <i>Examineurs.</i>
VAVON	

PARIS

JOUVE & C^{ie}, ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

1944

FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

Nom du Candidat : GUINAND.

Prénoms : Sylvanie-Marie-Jeanne-Josèphe.

Date de la soutenance : 20 Novembre 1943

Numéro d'ordre : 2918

1

GUINAND (Sylvanie). — Contribution à l'étude des propriétés physico-chimiques de l'acide ascorbique. — *Paris, Jouve et C^{ie}, édit., 1944, in-8°, 80 p.*

Th. Sc. Ph. Paris, 1944. Série A. 2051. N° 2918.

2

GUINAND (Sylvanie). — Contribution à l'étude des propriétés physico-chimiques de l'acide ascorbique. — *Paris, Jouve et C^{ie}, édit., 1944, in-8°, 80 p.*

Th. Sc. Ph. Paris, 1944. Série A. 2051. N° 2918.

3

GUINAND (Sylvanie). — Contribution à l'étude des propriétés physico-chimiques de l'acide ascorbique. — *Paris, Jouve et C^{ie}, édit., 1944, in-8°, 80 p.*

Th. Sc. Ph. Paris, 1944. Série A. 2051. N° 2918.

4

GUINAND (Sylvanie). — Contribution à l'étude des propriétés physico-chimiques de l'acide ascorbique. — *Paris, Jouve et C^{ie}, édit., in-8°, 1944, 80 p.*

Th. Sc. Ph. Paris, 1944. Série A. 2051. N° 2918.

SÉRIE A, N° 2051

N° D'ORDRE : 2918

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES

PAR

Sylvanie GUINAND

Licenciée ès Sciences Physiques

1^{re} THÈSE. — Contribution à l'étude des propriétés
physico-chimiques de l'acide ascor-
bique.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 20 Novembre 1943, devant la Commission d'examen

MM. E. DARMOIS, *Président.*

CABANNES

VAVON

} *Examineurs.*

PARIS

JOUVE & C^{ie}, ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

1944

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyens honoraires . . . M. MOLLIARD.
M. CH. MAURAIN.
Doyen M. P. MONTEL, *Professeur*, Théorie des fonctions.

Professeurs honoraires

LÉON BRILLOUIN.
AUGER.
DANGEARD.
LESPIEAU.
VESSIOT.
PORTIER.
LAPIQUE.

G. BERTRAND.
Ch. FABRY.
LÉON BERTRAND.
WINTREBERT.
DUBOSCQ.
BOHN.
RABAUD.

CAULLERY.
CARTAN.
E. BOREL.
A. COTTON.
J. DRACH.
M. GUICHARD.
LABROUSTE.

PROFESSEURS

Charles PÉREZ . . .	T	Zoologie.	GAULT	T	Chimie (P. C. B.).
L. BLARINGHEM . .	T	Botanique.	CROZE	T	Physique théorique et Physique céleste.
G. JULIA	T	Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	DUPONT	T	Théories chimiques.
C. MAUGUIN	T	Minéralogie.	VALIRON	T	Calcul différentiel et intégral.
A. DENJOY	T	Géométrie supérieure.	BARRABÉ		Géologie structurale et géologie appliquée.
L. LUTAUD	T	Géographie physique et Géologie dynamique.	F. PERRIN		Théories physiques.
G. BRUNAT	T	Physique.	VAVON	T	Analyse et mesures chimiques.
E. DARMOIS	T	Enseignement de Physique.	G. DARMOIS	T	Mathématiques générales.
A. DEBIERNE	T	Physique générale et Radioactivité.	CHATTON	T	Biologie maritime.
L. DUNOYER	T	Chimie physique.	AUBEL		Chimie biologique.
M. JAVILLIER	T	Chimie biologique.	J. BOURCART		Géographie physique et Géologie dynamique.
Henri VILLAT	T	Mécanique des fluides et applications.	M ^{me} JOLIOT-CURIE . .		Physique générale et Radioactivité.
Ch. JACOB	T	Géologie.	PLANTFOL	T	Botanique.
P. PASCAL	T	Chimie générale.	CABANNES	T	Recherches physiques.
M. FRÉCHET	T	Calcul des Probabilités et Physique mathématique.	GRASSÉ	T	Zoologie (Evolution des êtres organisés).
E. ESCLANGON	T	Astronomie.	PRÉVOST		Chimie organique.
H. BÉGHIN	T	Mécanique physique et expérimentale.	BOULIGAND		Mathématiques.
FOCH	T	Mécanique expérimentale des fluides.	CHAUDRON		Chimie (P. C. B.).
PAUTHENIER	T	Electrotechnique générale.	WYART		Minéralogie.
De BROGLIE	T	Théories physiques.	TEISSIER		Zoologie.
CHRÉTIEN		Optique appliquée.	MANGENOT		Biologie végét. (P. C. B.)
PRENANT	T	Anatomie et Histologie comparées.	P. AUGER		Physique.
COMBES	T	Physiologie végétale.	MONNIER		Physiologie générale.
GARNIER	T	Application de l'analyse à la géométrie.	PIVETEAU		Géologie.
PÉRES	T	Mécanique rationnelle.	ROCARD		Physique.
HACKSPILL	T	Chimie minérale.	H. CARTAN		Calcul différentiel.
TOUSSAINT		Technique Aéronautique.	SCHAEFFER	T	Physiologie générale.
M. CURIE		Physique (P. C. B.).	LAFFITTE		Chimie (P. C. B.).
G. RIBAUD	T	Hautes températures.	LEFRAY		Mécanique théorique des fluides.
CHAZY	T	Mécanique analytique et mécanique céleste.	FAVART		Calcul des probabilités et physique-Mathématique.
			COULOMB		Physique du globe.
			M ^{me} COUSIN		Biologie animale (P. C. B.).

Secrétaire C. MONIER.
Secrétaires honoraires { D. TOMBRICK
A. PACAUD.



A MES PARENTS

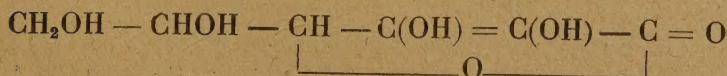
A MONSIEUR LE PROFESSEUR E. DARMOIS

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES DE L'ACIDE ASCORBIQUE

INTRODUCTION

L'acide *l*-ascorbique découvert en 1928 par SZENT-GYORGYI et ses collaborateurs qui ne tardèrent pas à l'identifier avec la vitamine C ou facteur antiscorbutique, a fait l'objet d'un très grand nombre de recherches et a donné naissance à une littérature abondante dans les domaines de la chimie, de la biologie et de la médecine.

On sait que cette substance peut être obtenue soit par l'extraction des produits où elle se trouve à l'état naturel, soit par synthèse à partir du *l*-xylose (méthode de Reichstein) ou du *d*-glucose (méthode de Micheels). La formule développée a été établie par différents procédés sur lesquels nous n'insisterons pas. Celle qu'on lui attribue actuellement est la suivante :



Cet acide a des propriétés physiques bien définies, mais il nous a paru intéressant cependant de reprendre, au moyen des techniques dont nous disposions, l'étude

de ses propriétés optiques pour suivre plus particulièrement comment il se comportait en solution.

Dans une première partie, la plus importante, nous avons repris l'étude de l'absorption ultraviolette de l'acide ascorbique en vue de son dosage dans des solutions extraites de tissus. Cette méthode physique de dosage n'était pas nouvelle. WURMSER et LOUREIRO [30], CHEVALLIER et CHORON [9] l'avaient déjà utilisée. Mais leur technique nécessitait un appareillage difficile à réaliser dans les conditions où nous opérons. C'est en effet, en octobre 1939, que ces travaux ont été entrepris à la demande du Professeur GIROUD, de la Faculté de Médecine de Paris, pour le Centre National de la Recherche scientifique appliquée, en vue de contrôler les résultats obtenus par des méthodes chimiques. Nous avons mis au point un dispositif simple permettant ces mesures ; nos recherches nous ont conduit à étudier l'action photochimique de l'ultraviolet qui servait de base au dosage, à isoler les radiations actives et à expliquer cette action. Nous avons été amené aussi à étudier l'influence de la concentration sur l'absorption ultraviolette, ce qui nous a permis d'étendre le domaine de validité de la loi de Beer, et à suivre les variations des bandes d'absorption en fonction du pH.

On sait d'autre part les relations étroites qui lient les phénomènes d'absorption et le pouvoir rotatoire ; or l'acide *l*-ascorbique, comme l'acide tartrique avec lequel il a des analogies, possède un pouvoir rotatoire que nous avons étudié en fonction des condi-

tions expérimentales (concentration, pH, longueur d'onde).

Nous avons pu aussi mettre en évidence par la méthode polarimétrique les deux acidités de l'acide ascorbique dont les constantes de dissociation sont bien connues.

Ces acidités peuvent être attribuées soit aux OH voisins du groupement carboxylique, soit au groupement $C = O$ lui même s'ionisant en solution. La formation du complexe borique de Biot Gernez mise en évidence par la polarimétrie d'une part, l'étude des spectres Raman d'autre part pouvaient permettre d'expliquer le comportement de l'acide en solution : le pouvoir rotatoire et l'effet Raman feront donc l'objet des deux autres parties de notre étude.

Ce travail a été effectué au Laboratoire de Physique (Enseignement) de la Sorbonne. Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à M. le Professeur DARMOIS qui m'a accueillie avec beaucoup de bienveillance dans son laboratoire et a toujours suivi mon travail avec intérêt. Je remercie également M. le Professeur CABBANES auprès duquel j'ai trouvé des conseils précieux.

Enfin, je tiens à exprimer toute ma gratitude à M. VODAR qui m'a guidée dans mes recherches et à remercier ceux de mes camarades qui m'ont aidée ainsi que le personnel du laboratoire.

Je n'oublie pas que c'est grâce à la Caisse Nationale de la Recherche Scientifique, qui depuis plusieurs années m'a accordé une bourse, que j'ai pu poursuivre ce travail.

PREMIÈRE PARTIE

ABSORPTION DANS L'ULTRAVIOLET

CHAPITRE I

Méthodes de mesures et technique expérimentale.

1. **Généralités.** — Nous rappellerons brièvement les grandeurs caractérisant l'absorption.

Soit I_0 l'intensité de la lumière incidente pour une radiation de longueur λ , I_1 l'intensité de cette radiation après la traversée de l cm de substance absorbante, en négligeant les pertes par réflexion sur les interfaces et la diffusion, I_1 et I_0 sont liés par la relation

$$I_1 = I_0 10^{-Kl}$$

K est le coefficient d'extinction de la substance pour la longueur d'onde λ :

$$K = \frac{1}{l} \log_{10} \frac{I_0}{I_1}$$

d la densité optique est donnée par la relation :

$$d = \log_{10} \frac{I_0}{I_1}$$

Soit :

$$K = \frac{d}{l}$$

Pour une solution, le coefficient K du corps dissous est fonction de la concentration.

Si la loi de Beer est satisfaite $\varepsilon = \frac{k}{C}$ est indépendant de la concentration C en gr/cm^3 .

On appelle coefficient d'extinction moléculaire ε_m , le quotient $\varepsilon_m = \frac{K}{C_m}$, C_m étant le nombre de molécules grammes par litre de solution.

2. **Historique.** — De nombreux expérimentateurs ont étudié l'absorption ultraviolette de l'acide ascorbique en solution aqueuse ou alcoolique. BOWDEN et SNOW [4] en 1932 ont observé une bande continue vers 2650 Å ; en 1933, HERBERT et ses collaborateurs [21] en ont fait l'étude quantitative ; ils ont noté que la bande se déplaçait et que la longueur d'onde λ était différente suivant qu'on était en milieu neutre, acide ou alcoolique ; ils ont déterminé alors le coefficient d'absorption de ces solutions, et ont montré qu'en solution aqueuse la loi de Beer était vérifiée pour des concentrations en poids comprises entre $5 \cdot 10^{-6}$ et $25 \cdot 10^{-6} \text{ gr}/\text{cm}^3$. Ils en ont déduit une application au dosage de l'acide ascorbique dans une solution de concentration inconnue.

L'année suivante (1934) (2) des déterminations plus précises des coefficients d'extinction ont été faites

à l'aide du spectrophotomètre Spekker (qui permet d'enregistrer simultanément sur une même plaque tout ce qui est nécessaire à la mesure de K). Pour une concentration de 2.10^{-5} gr/cm³, la valeur maxima de ϵ ainsi obtenue est de 5.10^4 en solution aqueuse d'acide ascorbique et $6,25.10^4$ dans une solution d'ascorbate de soude, le maximum étant situé à 2650 Å dans les deux cas.

CHEVALLIER et DUBOULOZ [10], en 1935, ont utilisé la méthode spectrophotométrique pour doser les vitamines dans les solutions biologiques par simple mesure du coefficient d'extinction au milieu de la bande d'absorption et par comparaison avec des solutions étalonnées. Les solutions biologiques utilisées n'étant pas pures, cette absorption pouvait être due à d'autres substances que l'acide ascorbique. C'est en 1936 que WURMSER et LOUREIRO [30] ont eu l'idée d'opérer par différence. Comme l'acide oxydé chimiquement ne possède plus de bande, la mesure de ϵ avant et après oxydation permet de connaître l'absorption due seulement à l'acide. En 1937, CHEVALIER et CHORON [9] ont mis au point cette méthode, utilisant comme oxydant l'action photochimique des rayons ultraviolets. Ils ont déterminé de nouveau le coefficient d'absorption relatif à une solution de concentration 10^{-5} gr/cm³ et admis pour la valeur de ϵ , au centre de la bande, 7.10^4 , valeur variable suivant les échantillons. Cette absorption varie aussi suivant le pH des solutions et le solvant. HERBERT, HIRST et leurs collaborateurs [21] avaient déjà remarqué cette

action ; CARPENI [7] en 1938, reprenant ces travaux et déterminant les constantes de dissociation par la méthode spectrophotométrique, notait le déplacement de la bande vers les grandes longueurs d'onde lorsque le pH augmente. Il attribuait alors cet effet à l'existence de trois bandes distinctes dues aux ions monovalent et divalent et à la molécule non dissociée.

Des travaux précédents, il résultait qu'il y avait désaccord sur certains points, en particulier sur la valeur exacte de ϵ , fort variable suivant les auteurs (5.10^4 , $6,25.10^4$, 7.10^4), et sur les limites de validité de la loi de Beer. Nous avons tenté de faire disparaître ces contradictions.

3. Méthode de mesure. — Nous avons employé la méthode aujourd'hui classique de la photométrie photographique. Nous renvoyons pour les détails aux travaux de TREHIN [28] et de FABRY et BUISSON [19]. Rappelons seulement le principe de la méthode utilisée en indiquant les modifications qui y ont été apportées.

On photographie sur une même plaque sensibilisée pour l'ultraviolet avec un même temps de pose :

1^o le spectre de la source à travers la cuve employée contenant le solvant ou la solution elle-même sous une très faible épaisseur ;

2^o les spectres d'étalonnage à travers l'épaisseur précédente dite épaisseur résiduelle et à travers des grilles de densités connues ;

3^o le spectre de la solution sous une épaisseur con-

venable. Les pertes de lumière par réflexion sont ainsi éliminées par différence, toutes les poses étant faites à travers la même cuve remplie d'eau (ou de solution d'indice peu différent).

Sur la même plaque les raies du spectre d'étincelle du Cuivre permettent de repérer les longueurs d'onde à 1 Å. près. La partie du spectre à étudier est encadrée par deux traits tracés sur la plaque parallèlement aux raies du cuivre.

Les mesures de densité ont été faites au microphotomètre enregistreur de CHALONGE et LAMBERT [7] qui donne en fonction de λ une ordonnée γ variable avec le noircissement. À partir des spectres d'étalonnage on construit, pour une longueur d'onde donnée, $\log_{10} \gamma$ en fonction des densités connues ; le temps de pose a été choisi de telle sorte que les courbes ainsi obtenues ou « caractéristiques » soient sensiblement des droites. On en déduit la densité optique à mesurer pour la longueur d'onde correspondante.

Il nous est arrivé aussi au cours de ce travail d'utiliser la méthode photoélectrique, lorsque nous voulions suivre les valeurs de ϵ en fonction du temps dans diverses conditions, les mesures étant plus rapides que par la méthode spectrographique. Nous avons alors utilisé le spectrophotomètre à cellule mis au point par Mlle SOULIER [25] qui nous donne une bonne sensibilité au centre de la bande à 2650 Å.

4. Dispositif expérimental. — Suivant les épais-

seurs sous lesquelles nous avons travaillé, nous avons utilisé deux montages différents.

Dans les deux cas on emploie comme source lumineuse une lampe à Hydrogène de CHALONGE et LAMBREY [8] alimentée par le secondaire d'un transformateur [1000V], sous une intensité de 30 à 60 mA, et qui donne un spectre absolument continu depuis le proche ultraviolet jusqu'à 1850 Å. Le spectrographe est du modèle Hilger E₂₁ à optique de quartz, la dispersion moyenne de 15 Å par mm. vers 2.300 Å.

Les plaques utilisées étaient soit des Zenith Ilford super sensibles, soit des Guilleminot Superfulgur, toujours sensibilisée suivant la technique de DUCLAUX et JANTET [12]. Pour éviter la variation de l'image latente, le développement n'est effectué que quelques heures après la prise des derniers spectres.

Le temps de pose varie de 10 à 40 secondes suivant les solutions à étudier et les plaques utilisées.

Comme réducteurs d'intensité nous avons employé des grilles en laiton oxydé préalablement étalonnées au spectrophotomètre photoélectrique pour la région 2650 Å et dont les densités sont de 0,16, 0,38, 0,54, 0,78 et 1.

1^{er} Montage. — Pour vérifier la loi de Beer, il a été nécessaire de réaliser des épaisseurs de solution qui, pour des concentrations de 10^{-6} à 10^{-3} gr/cm³, allaient de 100 mm. à 0,1 mm. Nous avons alors employé une cuve coulissante de Baly, en quartz fondu, munie d'un dispositif à vis micrométrique permettant de lire et re-

produire les épaisseurs avec une précision de $1/100$ mm.

Un système de deux lentilles L_1 , L_2 en quartz (non achromatiques) (fig. 1) donne un faisceau de lumière à peu près parallèle qui traverse la cuve. Pour éliminer en partie la diffusion produite par la lumière visible de la source, on forme l'image ultraviolette du tube capillaire sur un diaphragme D qui joue ainsi le rôle de

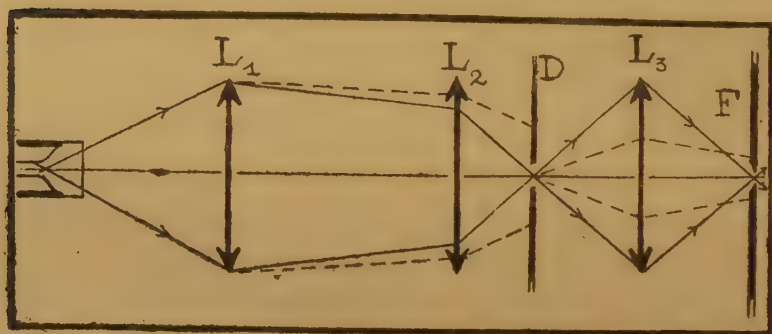


FIG. 1.

filtre. On projette alors l'image ultraviolette de ce diaphragme sur la fente du spectrographe au moyen d'une lentille L_3 non achromatique ; le faisceau lumineux subit ainsi deux filtrations successives.

2^e Montage. — Pour suivre l'étude de l'absorption en fonction de la concentration lorsque cette dernière varie de 10^{-3} à $2 \cdot 10^{-1}$ gr/cm³, limite de solubilité de l'acide ascorbique, il a fallu réaliser des épaisseurs variant de 500μ à quelques μ . Nous avons employé dans ce but la cuve construite par VODAR et Mlle DELIVRE (24). Cette cuve en forme de coin est constituée par deux lames de quartz rectangulaires de 35/79 mm.

et 7 mm. d'épaisseur, travaillées optiquement et planes à $1/5$ de frange sur la surface utile (fig. 2). La lame supérieure, taillée en biseau à l'une de ses extrémités est en contact avec la lame inférieure tout le long de l'arête AB et repose à son autre extrémité C sur de petites cales sphérocyindriques en quartz, qui peuvent

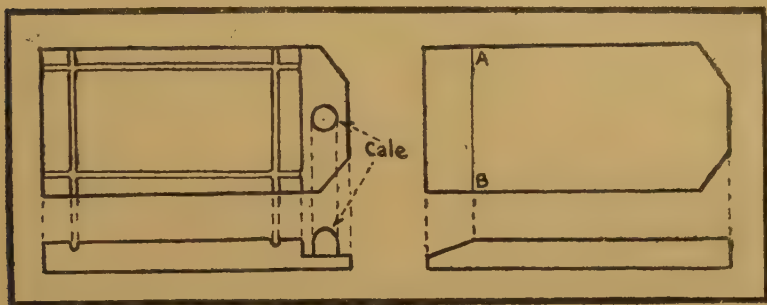


FIG. 2.

avoir des hauteurs différentes ; la lumière pénètre perpendiculairement aux faces, l'arête étant alors parallèle à la fente du spectrographe. La cuve est maintenue dans une monture en laiton au moyen de vis de serrage et peut se déplacer dans son plan sur une glissière fixe au moyen d'une vis micrométrique permettant une course de 49 mm. avec une précision de $1/100$ mm. Le principe est donc analogue à celui de la cuve de Baly ; mais l'étalonnage se fait toujours sur l'épaisseur résiduelle de la solution et à quelques millimètres de l'arête afin d'éviter les pertes dues aux réflexions multiples. On compte alors l'origine des épaisseurs à partir de cette distance.

Réalisation et mesure des épaisseurs. — Les épaisseurs variables sont obtenues au moyen de cales de diverses hauteurs (1).

Toute une série de cales de 500 à 2μ environ permettent donc de réaliser des épaisseurs de 0,1 à 500 μ .

Il est très difficile, malgré les repères, de placer une cale exactement dans la même position à chaque expérience; aussi est-il nécessaire, pour des cales d'épaisseur inférieure à 90 μ , de déterminer chaque fois la valeur de e .

Nous avons étalonné ces cales par la méthode interférométrique du coin d'air, dont le principe est le suivant :

on éclaire les lames de quartz au moyen d'un faisceau de lumière parallèle par un dispositif analogue à celui des anneaux de Newton. On observe ainsi dans le viseur un système de franges localisées sur la lame. Pour opérer en lumière monochromatique nous avons disposé sur le trajet de la lumière émise par un arc à mercure un double filtre qui élimine d'une part la raie jaune (écran au sel de didyme) d'autre part les raies bleues et violettes et ne laisse passer que la raie verte 5460 Å.

On compte à partir de l'arête les franges qui défilent dans le viseur. Soit e l'épaisseur du coin à une distance x de l'arête, correspondant à la frange d'ordre N .

1. Lorsque nous parlerons de cale d'épaisseur e , il s'agira non pas de la valeur absolue de l'épaisseur, mais de celle que l'on peut obtenir avec cette cale à l'extrémité de la partie utilisable de la cuve.

On a : $e = N\lambda/2n$

Nous avons construit les courbes d'étalonnage $N = f(x)$ pour différentes cales. On en déduit immédiatement pour une valeur de x ; pour $\lambda = 5460$ et $n = 1,273$ N.

Pour les cales supérieures à 5μ , cette courbe est rigoureusement une droite, les interfranges sont constantes tout le long de la cuve (fig. 3) ; pour les

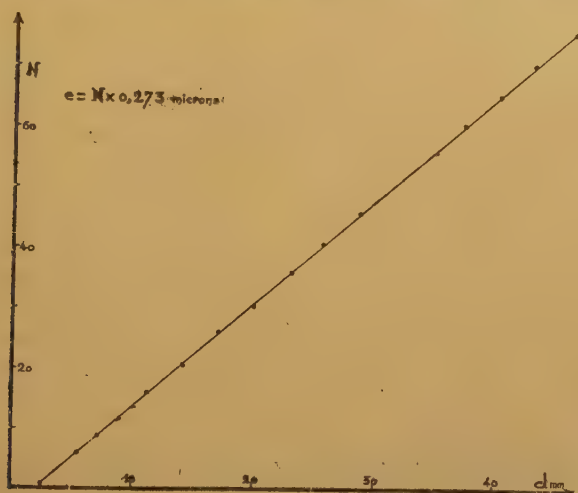


FIG. 3.

cales inférieures à 5μ pour lesquelles on n'observe que quelques franges, elle s'en écarte sensiblement (fig. 4). Les erreurs commises sont d'autant plus grandes que les épaisseurs sont plus faibles : le nombre de franges diminuant, celles-ci deviennent plus floues et le centre est plus difficile à pointer ; pour des cales de $1,7\mu$ l'erreur relative peut atteindre 10 % environ.

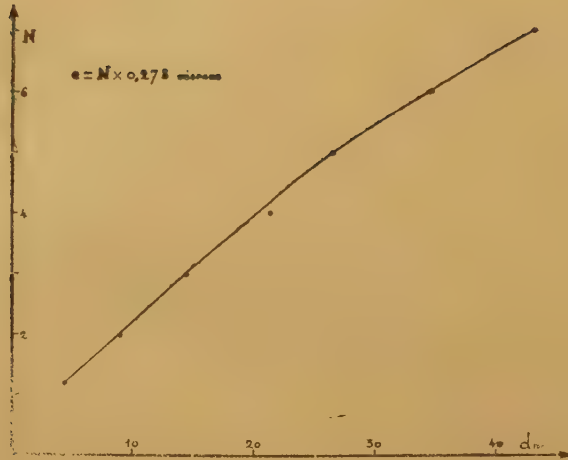


FIG. 4.

La cuve à absorption précédemment décrite est placée dans le montage de la figure 5. On forme

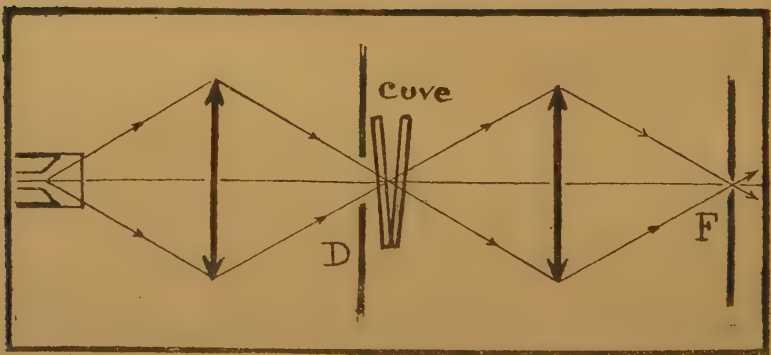


FIG. 5.

l'image du tube capillaire de la lampe à Hydrogène dans le plan vertical de la cuve, entre les deux lames. Un diaphragme rectangulaire D en avant de la cuve élimine une partie de la lumière diffusée. Une lentille

acromatique quartz-fluorine donne une seconde image sur la fente du spectrographe. On s'assure que la fente et le plan de la cuve sont bien conjugués par rapport à la lentille L_2 , en formant, par retour inverse, l'image de la fente du spectrographe sur un papier photosensible placé entre les deux lames de la cuve (1).

5. **Préparation des solutions et mode opératoire.** — Les solutions ont été préparées à partir d'acide cristallisé (2) qu'on dissout dans de l'eau bidistillée, préalablement portée à l'ébullition pendant 15 à 20 minutes, refroidie et conservée à l'abri de l'air (le pH était 6,5).

a) *Solution de concentration 10^{-6} à 10^{-3} gr/cm³.* — Les solutions diluées d'acide ascorbique en milieu neutre et alcalin sont très instables : nous les avons stabilisées en ajoutant à la solution du cyanure de

1. Ces lames étant épaisses introduisent un rapprochement de l'image qui varie avec la longueur d'onde, e étant l'épaisseur de la lame, le rapprochement de l'image d ,

$$d = e \left(\frac{n-1}{n} \right).$$

Pour 2000 Å l'indice du quartz $n = 1,65$ $d = 2,76$ mm.

Pour 3000 Å l'indice du quartz $n = 1,58$ $d = 2,57$ mm.

La variation de d est donc négligeable dans le domaine 2000-3000 Å. Quant à la déviation due au prisme du liquide, elle n'intervient pas puisqu'elle est constante tout le long de la cuve, $\Delta = A(n-1)$, et que l'image déviée est ramenée sur la fente au moyen de la lentille de fluorine.

2. Nous remercions bien vivement la maison Hoffmann-Laroche qui a mis gracieusement à notre disposition l'acide dont nous avons besoin.

potassium dont le rôle antioxydant est surtout sensible au voisinage de la neutralité.

Pour nous placer dans les mêmes conditions que CHEVALLIER nous avons ajouté un poids de CNK double de celui d'acide ascorbique après avoir vérifié que l'addition de ce sel ne modifiait pas le spectre d'absorption des solutions. Dans les conditions où nous opérons le pH restait voisin de celui du solvant, c'est-à-dire de 7.

Comme la balance dont nous disposions ne permettait des pesées qu'au 1/10 mg, nous avons préparé les solutions diluées à partir de solutions plus concentrées (10^{-2} gr/cm³).

b) *Solutions de concentrations 10^{-3} à 10^{-1} gr/cm³.* — Les solutions plus concentrées s'oxydant très lentement en fonction du temps on les a préparées *sans ajouter de cyanure de potassium*; en ramenant le pH au voisinage de la neutralité par addition d'une solution titrée de NaOH.

Le remplissage de la cuve à faibles épaisseurs que nous avons utilisée pour ces concentrations a nécessité quelques précautions ; pour obtenir un bon contact tout le long de l'arête, il faut éviter que la goutte de liquide déposée sur la lame inférieure de la cuve ne vienne mouiller l'arête ; on s'assure que ce contact est réalisé en observant, en lumière blanche, sous l'incidence rasante les franges brillantes au voisinage de l'arête. Celles-ci sont rendues bien parallèles grâce aux vis de serrage.

Les faibles épaisseurs (cales inférieures à 90μ) n'étant pas reproductibles, ainsi que nous l'avons déjà dit, nous les avons déterminées sur la *solution elle-même* avant chaque mesure d'absorption par la méthode précédemment décrite. Nous avons alors admis comme indice de réfraction de la solution la valeur de l'indice du solvant, soit $4/3$. Cette approximation a été justifiée par nos calculs d'erreurs.

Dans le cas où la concentration atteint $2 \cdot 10^{-4} \text{ gr/cm}^3$, les solutions sont légèrement colorées et l'on ne peut plus distinguer les franges. Nous les avons alors pointées à la partie supérieure et inférieure de la cuve, au delà des rigoles qui limitent la partie réservée à la solution. Mais comme la cuve n'est absolument plane que dans sa partie centrale par suite d'irrégularités sur les bords, les franges que l'on observe pour des épaisseurs très faibles sont légèrement incurvées. Pour qu'on puisse le pointer indifféremment au centre et sur les bords, il est nécessaire de s'assurer de leur parallélisme et de leur symétrie par rapport à l'axe horizontal de la cuve.

Nous avons alors construit les courbes $N = f(x)$ qui ne sont pas rigoureusement des droites, les franges étant plus serrées au voisinage de l'arête.

Pour la mesure des densités optiques, l'étalonnage se fait, avec la cuve de Baly, sur l'épaisseur résiduelle du solvant, avec la cuve en coin, sur la solution elle-même. Dans le premier cas, le solvant étant transparent dans la région étudiée, les courbes $y = f(\lambda)$ obtenues par enregistrement microphotomé-

trique sont pratiquement des droites dont la pente dépend de la sensibilité de la plaque, tandis que dans le second cas, la solution pouvant être absorbante sous faible épaisseur, on choisit l'épaisseur résiduelle de telle façon que les courbes obtenues par enregistrement soient rectilignes : nous nous sommes placés pour cela à 2 mm. de l'arête.

Enfin, on sait que la loi de Lambert (ϵ proportionnel à l'épaisseur de solution traversée) s'applique ; nous avons donc mesuré l'absorption de la même solution sous plusieurs épaisseurs, ce qui nous a permis de vérifier la valeur des coefficients d'extinction.

6. Précision des mesures. — Les erreurs peuvent provenir soit de la mesure même de la densité optique, soit des mesures d'épaisseurs, soit enfin de la concentration des solutions. D'autre part, les échantillons de fabrications différentes d'acide ascorbique, malgré leur purification peuvent donner des coefficients d'absorption différents. Pour éliminer cette dernière cause d'erreur, nous avons toujours fait une même série de mesures avec le même échantillon.

a) *Densité optique.* — Les erreurs sur les mesures de la densité optique peuvent avoir diverses causes : variation pour une même plaque de l'exposition (intensité de la source et temps de pose) et variation de la sensibilité du microphotomètre enregistreur.

Un rhéostat permettant de régler pendant la durée de l'exposition l'intensité de la lampe, on obtenait une précision de 0,5 mA. N'ayant pas toujours disposé

d'un milliampermètre qui donnait une aussi bonne sensibilité, nous avons alors diminuer l'erreur en augmentant l'intensité de la source et en diminuant le temps de pose : celui-ci pouvait être apprécié au $1/5^e$ de seconde.

L'enregistrement au microphotomètre introduit aussi des erreurs. La sensibilité peut varier de 4 à 5% au cours d'enregistrement de plusieurs spectres d'une même plaque. La sensibilité était notée avant et après chaque enregistrement, ce qui nous permettait de corriger les elongations γ .

b) *Épaisseurs*. — Les erreurs dues aux mesures d'épaisseurs dans le cas où nous avons utilisé la cuve de Baly étaient au plus de 1% ; des mesures faites sur une épaisseur de 0,1 mm. pour des concentrations de 10^{-3} gr/cm³, nous ont donné pour la mesure de ϵ des erreurs de 30% ; la cuve n'était donc pas utilisable pour de telles solutions.

Dans l'emploi de la cuve en coin pour les très faibles épaisseurs, nous avons eu à tenir compte comme nous l'avons dit plus haut du fait que les franges étaient larges ; nous en pointions le centre. Une série de plusieurs mesures a toujours été faite pour déterminer la courbe d'étalonnage.

D'autre part pour le calcul de ϵ , nous avons considéré que les solutions étudiées avaient des indices très voisins de celui de l'eau et nous avons pris $n = 4/3$, quelles que soient les concentrations.

Pour les plus faibles concentrations cette approxi-

mation est justifiée dans le cas où l'épaisseur assez grande correspond à des franges serrées : en ne remplissant pas complètement la cuve avec la solution, on peut alors observer *simultanément* les franges dans les deux régions avec et sans liquide : l'épaisseur calculée pour $n = 1$ et $n = 4/3$ est la même.

Pour des concentrations plus grandes, les épaisseurs étant plus faibles le pointage du centre des franges est plus difficile, ce qui rend les mesures imprécises. Notre approximation dans ce cas est aussi légitime. En effet :

$$ne = N \frac{\lambda}{2}$$

d'où
$$\frac{dN}{N} = \frac{de}{e} + \frac{dn}{n}$$

Mais
$$N = \frac{L}{i} \quad (i \text{ interfrange})$$

$$L \text{ longueur utilisée de la cuve).}$$

Or $di/i \approx 0,01$ pour des cales d'épaisseur de 5μ environ ; l'erreur commise en confondant l'indice de la solution avec celui de l'eau affecte au plus la troisième décimale : elle est donc inférieure à celle commise dans les mesures d'interfranges.

c) *Concentration des solutions.* — L'ensemble des erreurs commises est inférieure à 2 %.

Application au dosage. — Δ étant la densité optique d'une solution de concentration C :

$$x = C \times \frac{\Delta}{D}$$

$$\frac{dx}{x} = \frac{dC}{C} + \frac{d\Delta}{\Delta} + \frac{dD}{D}$$

L'erreur commise sur les densités optiques étant de 1,25, $\frac{dx}{x} \approx 4/100$. On peut donc doser les solutions à 4 % près.

CHAPITRE II

Résultats expérimentaux.

On sait que les solutions d'acide ascorbique possèdent deux bandes d'absorption, l'une dans l'ultra-violet moyen, l'autre beaucoup plus intense dont le maximum se trouve dans la région de Schumann. Nous avons voulu déterminer aussi exactement que possible le coefficient d'extinction au centre de la première bande.

Or les résultats varient avec les échantillons étudiés, ils varient aussi avec certains facteurs : temps, concentration et pH ; nous avons donc étudié successivement l'influence de ces facteurs.

A. Détermination de ϵ pour des concentrations et pH constants.

Les mesures du coefficient d'absorption ont été faites sur des solutions de concentration 10^{-5} gr/cm³, le pH de la solution étant très peu différent de celui du solvant c'est-à-dire 7 ; le maximum de la bande est alors situé à 2650 Å.

1. *Effet de vieillissement.* — Nous avons tout d'abord

vérifié que pour des solutions très diluées le coefficient d'absorption variait très rapidement avec le temps par suite de l'oxydation.

Pour des solutions préparées avec de l'eau bidistillée, à la concentration 10^{-5} gr/cm³, ϵ tombait de 85 à 65.10^4 en 3 minutes, soit 25 % environ, 35 % en 5 minutes.

On peut éviter cette destruction rapide en préparant les solutions avec de l'eau bidistillée bouillie et refroidie sous un courant d'Azote, et en opérant à l'abri de l'air. Mais il est plus simple d'ajouter aux solutions du cyanure de potassium dont on connaît l'effet stabilisant lorsqu'on est en milieu neutre. En opérant dans ces conditions nous avons constaté que l'effet de vieillissement était pratiquement nul.

La figure 6 montre l'affaiblissement de la bande : la courbe supérieure correspond à une solution 12 minutes après sa préparation, la courbe inférieure à la même solution après 52 minutes. Le coefficient d'extinction voisin de 0,85 diminué de 0,03 en 40 minutes. D'autres mesures ont donné les mêmes résultats, ϵ , pour une solution préparée 2 heures auparavant, était devenu égal à 0,75.

Les spectres étant tous pris dans un temps maximum de 10 minutes la limite supérieure de l'erreur commise du fait du vieillissement était de l'ordre de 0,01 en valeur absolue, soit 1 % en valeur relative.

Nous avons vérifié d'autre part que, pendant la prise des spectres, la source n'altérait pas les solutions et par conséquent n'apportait aucune modification à

ceux admis par les expérimentateurs précédemment cités [2, 21, 6], mais ils sont en accord avec ceux de CARPÉNI [6] qui indique pour un intervalle de pH compris entre 5,5 et 11,5 une valeur de ϵ_m égale à 15.000.

B. Influence de la concentration.

Vérification de la loi de Beer.

HIRST et ses collaborateurs [21] avaient montré que la loi de Beer (proportionnalité du coefficient d'absorption à la concentration) était vérifiée dans un intervalle assez restreint pour des concentrations de $5 \cdot 10^{-6}$ à $25 \cdot 10^{-6}$ gr/cm³.

Nous avons repris ces mesures et étendu l'intervalle de validité de la loi de Beer en faisant varier la concentration de 10^{-6} à $2,8 \cdot 10^{-4}$ soit 1,61 Mol/l, limite de solubilité de l'acide ascorbique [18]. Les techniques que nous avons employées ont été différentes suivant les concentrations et par conséquent les épaisseurs sous lesquelles nous avons mesuré l'absorption.

Concentrations comprises entre 10^{-6} et 10^{-3} gr/cm³.

Nous avons dans ce cas employé la méthode la plus directe : enregistrement de plusieurs spectres relatifs à des concentrations et à des épaisseurs telles que leur produit soit constant. Si la loi de Beer s'applique, le solvant étant transparent sous quelques centimètres dans la région étudiée (2650 Å), les spectres doivent

être identiques et les enregistrements photométriques superposables.

Nous avons donc pris sur une même plaque et avec la même exposition les spectres correspondant aux épaisseurs et concentrations suivantes :

Concentrations (gr/cm ³)	Epaisseurs (mm)
10^{-6}	100
10^{-5}	10
10^{-6}	1
10^{-3}	0,1

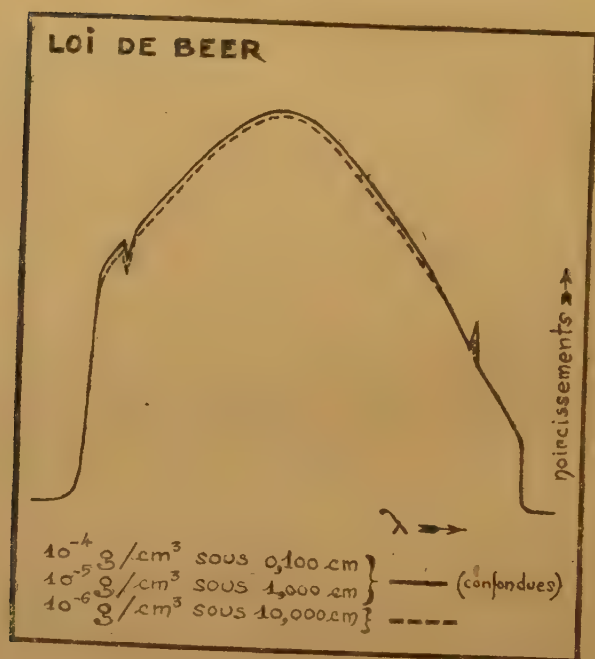


FIG. 7.

La cuve de Baly permettait de réaliser ces épaisseurs et l'étalonnage se faisait sur l'épaisseur résiduelle de l'eau, le montage utilisé était celui qui a été décrit (fig. 1).

Les courbes de la figure 7 montrent que les enregistrements correspondant à 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} sont bien superposables. Les valeurs obtenues pour ε correspondant à ces concentrations sont les mêmes :

$$\varepsilon = 86.000 \pm 1.000$$

Pour la concentration 10^{-3} , l'épaisseur résiduelle de la solution n'étant pas négligeable par rapport à l'épaisseur à réaliser (0,10 mm.), il a été nécessaire de mesurer le coefficient d'absorption de cette épaisseur résiduelle K_2 ;

$$K = K_1 - K_2$$

La valeur ainsi trouvée pour K était 0,51, ce qui semblait prouver que pour une telle concentration la loi de Beer ne s'applique plus.

Concentrations comprises entre 10^{-3} et $2,8 \cdot 10^{-1}$.

La cuve en coin décrite plus haut et utilisée dans le montage en lumière convergente nous a permis de réaliser des épaisseurs telles que les densités optiques des solutions traversées soient mesurables, c'est-à-dire comprises entre 0 et 1, et que le produit de ces épaisseurs par la concentration soit le même dans tous les cas.

L'étalonnage se faisant sur la solution elle-même, nous avons mesuré K pour chaque solution, sous plusieurs épaisseurs. Les résultats sont portés dans le tableau suivant :

TABLEAU I

$C \text{ gr/cm}^3$	e	$\log_{10} \frac{I_0}{I}$	$\varepsilon = \frac{1}{lc} \log_{10} \frac{I_0}{I}$
10^{-2}	49,9 99,8	0,397 0,78	79.600 78.100
10^{-3}	9,1 11,25	0,73 0,90	81.000 80.400
10^{-1}	0,75	0,59	78.000
$2 \cdot 10^{-1}$	0,5	0,77	77.000
$2,83 \cdot 10^{-1}$	0,19 0,32	0,725 1,185	136.000 133.000

Les valeurs que nous trouvons dans cette série de mesures sont inférieures à celles trouvées plus haut : nous ne pensons pas que cet écart soit dû à la différence des techniques expérimentales employées, mais bien plus tôt à la substance même dont nous sommes partis. L'échantillon d'acide utilisé dans la deuxième série de mesures datait de deux ans et avait dû subir une légère oxydation par suite de l'humidité atmosphérique.

L'ensemble des résultats concernant la loi de Beer a été résumé dans le tableau II et la figure 8.

C_{gr/cm^3}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}	$2 \cdot 10^{-1}$	$2,83 \cdot 10^{-1}$
$C_{mol/l}$	$0,56 \cdot 10^{-5}$	$0,56 \cdot 10^{-4}$	$0,56 \cdot 10^{-3}$	$0,56 \cdot 10^{-2}$	$0,56 \cdot 10^{-1}$	0,56	1,12	1,61
$\varepsilon \cdot 10^{-5}$	0,85	0,855	0,865	0,78	0,78,4	0,78,4	0,77	1,33

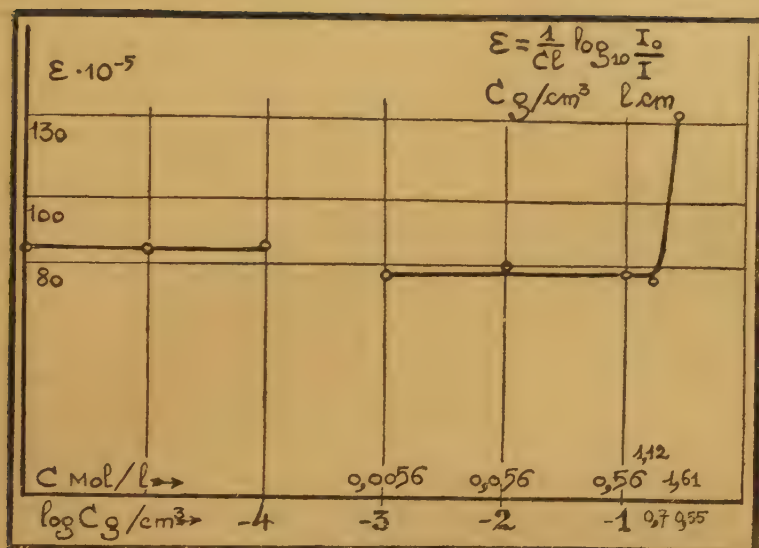


FIG. 8.

La courbe obtenue en portant en abscisse $\log_{10} C$ et en ordonnée $\epsilon \cdot 10^{-5}$ montre que ϵ est constant pour des solutions de concentration 10^{-6} à $2 \cdot 10^{-1}$. La loi de Beer est donc vérifiée pour ces concentrations. Nous n'avons pu aller au delà de $2,83 \cdot 10^{-1} \text{ gr/cm}^3$ limite de solubilité de l'acide ascorbique en milieu alcalin. D'autre part, nous étions arrivés à la limite des mesures précises d'épaisseurs. Pour évaluer l'épaisseur de cale inférieure à $1,5 \mu$, c'est-à-dire pour pointer trois ou quatre franges, il eût fallu pouvoir déterminer le centre de ces franges par la méthode photométrique.

Les résultats obtenus nous permettent donc de constater que la bande n'est pas déplacée pour des concentrations de 10^{-6} à $2,8 \cdot 10^{-1} \text{ gr/cm}^3$, lorsque le pH

reste compris entre 6 et 10, et que le coefficient d'absorption est indépendant de la concentration. Cette absorption est due très probablement au groupement — C(OH)=C(OH)— ou C=O , qui en solution est dissimulé.

Cette validité de la loi de Beer est particulièrement importante puisqu'elle est la base même du dosage spectrophotométrique.

C. Influence du pH

On sait que les spectres d'absorption d'un grand nombre d'acides organiques sont différents de ceux de leurs sels ; ce fait a été constaté en particulier pour l'acide tartrique et les tartrates.

Dans de récents travaux, CARPÉNI [6] étudiant la dissociation de l'acide ascorbique a mis en évidence l'existence de trois bandes distinctes dont les positions et les intensités sont exprimées en fonction du pH dans le tableau ci-dessous :

		λ_M	ϵ_M
		—	—
5,5 $\leq$	pH ≤ 3	2.425 Å	10.000
	pH $\leq 11,5$	2.645	15.000
	pH $\leq 12,5$	2.980	11.000

Or, d'après HIRST et ses collaborateurs, le spectre d'absorption est le même pour l'acide et son sel en solution aqueuse, à la concentration de 2.10^{-5} , le maximum de la bande étant dans ce cas à 265 m μ . Il passerait à 245 par addition d'une petite quantité

d'acide minéral à la solution. Pour les solutions plus concentrées d'acide ascorbique seul, le maximum de la bande se trouve aussi à 245. Ces résultats qui semblent en contradiction avec ceux de CARPÉNI s'expliquent facilement : pour les solutions très diluées le sel est obtenu par addition d'une très faible quantité de soude qui ne modifie pas le pH de la solution ; il n'est donc pas étonnant que dans ces conditions l'on observe les mêmes spectres pour l'acide et pour le sel. C'est également pour cette raison que l'addition de CNK aux solutions diluées ne modifie pas les spectres d'absorption.

Les mesures de CARPÉNI ont été effectuées à la concentration de $2 \cdot 10^{-4}$ gr/cm³. Nous avons voulu les reprendre pour de faibles concentrations ; mais il a été difficile d'obtenir des résultats précis en raison de l'instabilité des solutions pour les faibles dilutions. Pour la concentration 10^{-1} gr/cm³, les résultats que nous avons obtenus concordent avec ceux indiqués précédemment. La courbe représentant λ_m (longueur d'onde du maximum d'absorption) en fonction du pH présente trois paliers dont les ordonnées respectives sont, pour les intervalles de pH indiquées plus haut :

λ_m	2410	2650	2950
ϵ_H		14500	10500

Pour des concentrations de 1 molécule par litre, soit $1,76 \cdot 10^{-1}$ gr/cm³, nous avons trouvé un maximum λ_m à 2.264 ; la bande est donc déplacée et la

loi de Beer, en milieu acide, n'est donc plus vérifiée.

Nous pourrions essayer d'expliquer l'existence de ces différents maxima par un effet électrostatique. On sait en effet que ces bandes sont dues au groupement chromophore $\text{— C} = \text{C} \text{—}$ ou $\text{C} = \text{O}$, et d'origine électronique ; la variation de pH modifiant le potentiel ionique de la solution pourrait donc entraîner le déplacement de la bande. Mais il est plus vraisemblable d'admettre que ce déplacement n'est qu'apparent et qu'il existe en réalité plusieurs bandes dues, dans certaines conditions de pH, à l'apparition de différentes formes moléculaires comme l'ont montré VLES et ses collaborateurs pour un certain nombre d'acides organiques (1).

Nous verrons plus loin comment nos conclusions relatives à l'effet Raman sont en faveur de cette dernière hypothèse.

ACIDE ASCORBIQUE CRISTALLISÉ

Il était intéressant aussi d'étudier le spectre d'absorption de l'acide cristallisé et de le comparer avec celui de l'acide en solution.

Mais lorsqu'ils s'agit de petits cristaux de substances organiques ou de poudres cristallines, on ne peut utiliser les dispositifs classiques. Plusieurs expérimentateurs [17] ont étudié l'absorption par réflexion,

1. Les mesures de pH ont été déterminées colorimétriquement avec l'indicateur universel BDH ce qui nous a donné une approximation suffisante pour définir un intervalle de variation.

en projetant dans le spectographe la lumière réfléchiée par le corps réduit à l'état de poudre très fine. Le spectre observé est alors formé de la superposition de deux spectres, l'un de réflexion pure qui varie peu avec la longueur d'onde, l'autre d'absorption par transmission.

Mme GUILMART, au laboratoire de Chimie organique, a bien voulu nous faire, suivant la technique qui y avait été mise au point, le spectre de l'acide ascorbique. Mais on n'a observé qu'une région d'absorption intense vers 2850 Å ; le fond continu qui s'étendait plus loin correspondait à la lumière diffusée par les petits cristaux.

Une autre méthode consistait à essayer d'obtenir à partir de la poudre cristalline qui nous était fournie dans le commerce, des cristaux de dimensions telles que par un dispositif approprié nous puissions éclairer directement un seul de ces cristaux. Il fallait pour cela obtenir des cristaux aussi réguliers que possible. M. MENTZER qui avait eu l'amabilité de nous en fournir quelques échantillons, nous avait indiqué la technique à employer (p. 70). Nous avons donc eu ainsi des cristaux se présentant sous forme de petits troncs de prisme de 2 à 3 mm. de hauteur.

Dans le montage utilisé pour l'absorption sous petites épaisseurs le cristal était placé parallèlement à la fente dans son plan conjugué à l'endroit où se forme l'image de la fente par retour inverse de la lumière ; il était appliqué contre une lame de quartz et maintenu au moyen d'un papier noir perpendiculai-

rement à une lame de verre de mêmes dimensions de façon à ce que l'on puisse comparer les absorptions du cristal et du verre. Le réglage était fait de façon que l'image de la fente par retour inverse couvre entièrement le cristal ; l'épaisseur traversée était de quelques dixièmes de millimètre. Dans ces conditions l'absorption commençait vers 2 000 Å.

Des échantillons analogues avaient été remis à M. TRÉHIN qui étudie spécialement l'absorption ultraviolette des cristaux par transmission. Le cristal était maintenu sur une plaque percée d'un trou de 0,80 mm. et l'image de ce trou projetée sur la fente du spectrographe, agrandie environ cinq fois. La bande d'absorption intense commençait à 3.080 pour un échantillon et 3.000 environ pour l'autre.

Bien que ces résultats soient concordants, on ne peut conclure en ce qui concerne la bande caractéristique de l'acide ascorbique cristallisé, l'épaisseur de cristal traversée correspondant en effet à une concentration pour laquelle les solutions sont très absorbantes.

Nous avons alors employé la méthode utilisée dans l'infrarouge pour étudier l'absorption des poudres ; pour cela nous avons réalisé entre deux lames de quartz une couche très homogène de poudre extrêmement fine, noyée dans l'hexane pour réduire la diffusion. Cette lame ainsi préparée était traversée par un faisceau de lumière parallèle. Les résultats obtenus n'ont pas été très nets en raison de la diffusion ; l'enregistrement microphotométrique a cependant

montré l'existence d'une bande dont le maximum est au voisinage de $2.300 \text{ \AA}$.

Nous avons aussi essayé d'obtenir des faibles épaisseurs d'acide à l'état solide en évaporant sur une lame de quartz une goutte d'une solution concentrée. En éclairant, en lumière convergente, une région très limitée aussi homogène que possible, l'enregistrement du spectre obtenu présente une inflexion très nette à $2.250 \text{ \AA}$, ce qui semble correspondre à la présence d'un maximum d'absorption pour cette longueur d'onde.

Les mêmes résultats ont été obtenus en laissant reposer pendant plusieurs semaines, une solution d'acide ascorbique de concentration 2.10^{-1} dans la cuve en coin et en observant l'absorption au voisinage de l'arête.

De ces différentes observations nous pouvons conclure que le spectre d'absorption est le même pour l'acide ascorbique à l'état solide et en solution très concentrée à *pH* acide ; cette bande dont le maximum est à 2.260 serait donc due à la molécule non dissociée.

CHAPITRE III

Action photochimique de la lumière ultraviolette.

1. Sources d'irradiations.

L'action photochimique de la lumière ultraviolette sur les vitamines avait déjà été mise en évidence en 1932 par BOWDEN et SNOW [4] et utilisée par CHEVALLIER et DUBOULOZ [10]. La méthode était basée sur le rendement quantique, c'est-à-dire le nombre de molécules décomposées par quantum d'énergie lumineuse, ce rendement étant considéré comme caractéristique de chaque vitamine ; l'énergie nécessaire pour détruire une molécule gramme étant déterminée une fois pour toutes pour une solution aqueuse, on mesurait l'énergie nécessaire pour détruire toute la vitamine présente dans la solution à doser ; on sait que la destruction est totale lorsque la bande d'absorption a complètement disparu. Il est donc nécessaire d'avoir une source d'irradiation constante dont on puisse connaître à chaque instant le flux lumineux et qui doit d'autre part avoir une grande puissance. Celle qu'ont utilisée CHEVALLIER, DUBOULOZ et ROUX [11] est un tube à Hydrogène d'une puissance de 3.500 Watts.

Pour le dosage de l'acide ascorbique par différence tel qu'il a été indiqué par WURMSER et LOUBEIRO [30], puis par CHEVALLIER lui-même en 1937, le contrôle et la mesure de l'énergie lumineuse ne sont plus nécessaires puisque le dosage est basé sur la différence de l'absorption de l'acide ascorbique et de son produit d'oxydation.

Nous avons donc cherché, en collaboration avec M. VODAR une source d'irradiation qui soit plus facilement réalisable. Seule la lumière absorbée pouvant être active, les radiations utilisées doivent être celles du centre de la bande (vers 2.650) ou bien celles de l'ultraviolet plus lointain puisqu'il existe une région de réabsorption intense au voisinage de 2000 Å.

C'est sur des solutions aqueuses de concentration 10^{-5} gr/cm³ additionnées de KCN (sous une épaisseur de 1,5 cm) qu'ont été faits tous nos essais.

Nous avons tout d'abord soumis ces solutions à l'action d'une lumière riche en radiations dans la région 2500-2300 Å et pratiquement privée de radiations plus courtes (arc à vapeur de mercure en quartz fonctionnant sous 80 volts, 4 ampères). après 7 heures d'irradiation nous avons constaté seulement une destruction due au vieillissement.

Nous avons alors utilisé l'étincelle classique des photochimistes entre deux électrodes de métaux choisis de telle façon que leur spectre d'émission soit particulièrement riches dans l'ultraviolet lointain (étincelle condensée sous 1500 volts et condensateur de 0,015 µF en dérivation aux bornes).

L'emploi des électrodes de Cadmium donnant un groupe de raies très intenses vers 2300 et un groupe de raies relativement plus faibles (1874-56-51), et des électrodes Zn-Al, dont le spectre plus riche en

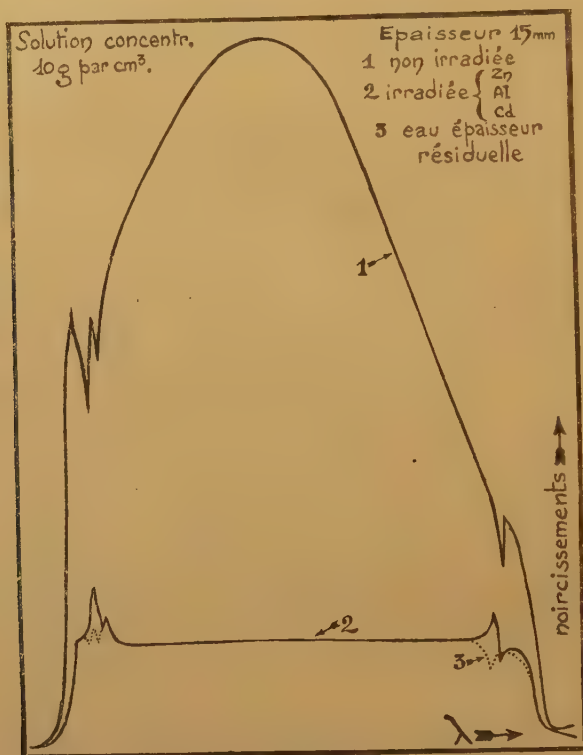


FIG. 9.

dessous de 2000 Å, émet en particulier les raies 1861-57-54, nous ont conduit à des résultats équivalents. La cuve est placée le plus près possible de la source, à quelques millimètres de celle-ci. De cette manière nous obtenons une destruction totale en 15 minutes, tandis qu'avec leur tube à Hydrogène à grande puis-

sance CHEVALLIER et CHORON obtenaient les mêmes résultats sur les mêmes solutions en 45 minutes. La courbe supérieure correspond à la solution non irradiée photographiée sous 15 mm ; les deux courbes inférieures, pratiquement confondues, correspondent l'une à la solution sous la même épaisseur après irradiation de 15 minutes, et l'autre à une épaisseur résiduelle d'eau pure, ce qui montre que le produit d'oxydation est parfaitement transparent.

Nous avons pu suivre la destruction de l'acide ascorbique en fonction du temps en mesurant les coefficients d'absorption ϵ au spectrophotomètre photoélectrique déjà cité.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau III.

TABLEAU III

t (minutes)	0	1	2	5	10
$\epsilon_{\text{Max.}}$	0,764	0,512	0,38	0,08	0

2. Radiations actives.

Toujours dans un même but de dosage VACHER et Melle LORTIE [28] avaient utilisé comme source d'irradiation un tube à vapeur de mercure sous basse pression et haute tension (11.000 V, 225 W) qui émettait avec une forte intensité la raie de résonance 2537 Å et dans l'ultraviolet plus lointain les raies 1942 et 1849 Å. Le tube de forme hélicoïdale entourait complètement la cuve et la destruction totale était réalisée en quelques secondes, le flux lumineux ainsi produit étant facilement mesurable.

Pour déterminer quelles étaient la ou les radiations actives [17] nous avons utilisé une source analogue, beaucoup moins puissante : tube rectiligne à vapeur de mercure de la maison Gallois (sous 30 mA, 1000 V).

Nous avons tout d'abord vérifié que la raie de résonance du mercure comprise dans la bande d'absorption, centrée sur 2650 Å, de l'acide ascorbique, malgré sa grande intensité, n'intervenait pas dans la destruction photochimique. Un filtre formé d'une couche de 2,5 mm. de glucose cristal entre deux lames de quartz, absorbant à partir de 2250 Å, éliminait les radiations de courtes longueurs d'onde pour ne laisser pratiquement subsister que la raie 2537 Å. Les coefficients d'extinction des solutions, préparées selon la technique habituelle, étaient mesurés avant et après irradiation, au moyen du spectrophomètre à ultraviolet déjà utilisé (25) : les densités optiques mesurées, au centre de la bande 2650 Å

1° en interposant le filtre,

2° sans l'interposer

sont consignées dans le tableau IV.

TABLEAU IV

Temps d'irradiation (minutes)	$\log \frac{I_0}{I}$		
	avec filtre	sans filtre	Solution non irradiée
0.....	0,638	0,638	0,638
15.....	0,624		
25.....	0,614	0,677	0,634

On voit que pratiquement l'acide ascorbique n'est

pas détruit lorsqu'on interpose le filtre, ce qui montre que les radiations supérieures à 2250 Å sont inactives ; les radiations actives sont donc bien celles de l'ultra-violet lointain, probablement 1942 et 1850 Å, les plus intenses dans le spectre d'émission de la lampe au-dessous de 2250 Å.

D'autres filtres de glucose cristal, dont l'épaisseur très faible (une simple couche de glucose serrée entre deux lames de quartz) n'a pas été mesurée, éliminent seulement la raie 1850 Å et laissent passer, outre 2537, les raies 1942 et quelques autres plus faibles, 2063 et 2262. Dans ce cas, le coefficient d'absorption, sans filtre, est tombé de 0,79 à 0,09, avec le filtre de 0,80 à 0,72 ; dans les deux cas les solutions avaient été irradiées 25 minutes. *Il semble donc bien que ce soit la raie 1850 Å qui soit en grande partie responsable de la destruction photochimique* : L'émission de cette raie qui résulte du passage $2_1 P_1 \rightarrow 1 S_0$, serait favorisée lorsque on élève le voltage sous lequel fonctionne la lampe ; ceci explique que le rapport des temps de destruction, de 15 minutes à quelques secondes, dans la lampe utilisée par nous et dans celle de Vacher, ne soit pas celui des puissances. Il est probable aussi que dans ce dernier cas, la cuve complètement entourée par le tube reçoit un flux lumineux plus grand.

Néanmoins dans les expériences précédentes, malgré l'interposition des filtres de glucose cristal qui absorbent les radiations supposées actives, nous avons noté une légère diminution du coefficient d'absorption, indiquant la disparition d'une quantité très faible

d'acide ascorbique : après 25 minutes d'irradiation, ϵ a diminué de 0,024 (filtre de 2,5mm.) et de 0,07 (filtre d'épaisseur très faible), ce qui correspond à une destruction d'environ 3 à 4 % dans le premier cas et à 10 % dans le second. Cette destruction ne peut pas être due à l'action du temps puisque pour la solution non irradiée le coefficient d'absorption n'a pas sensiblement varié pendant la durée d'exposition. Elle vient probablement de ce que les filtres employés ne sont pas parfaitement opaques à la raie 1850 Å.

3. Application au dosage.

Dans les solutions complexes extraites de tissus, la présence de substances étrangères à la fois photosensibles et absorbantes dans la région 2650 Å peut fausser le dosage. La mesure du rendement quantique ou plus simplement une estimation de l'énergie lumineuse totale (la solution étudiée étant comparée avec une solution d'acide ascorbique pur) permet déjà de reconnaître la présence de substances étrangères. Mais la sélectivité des raies photochimiquement actives est une caractéristique supplémentaire de la substance à doser et permet de la doser plus sûrement.

D'autres substances, en s'opposant à la destruction photochimique de l'acide ascorbique peuvent empêcher les dosages. Tel peut être le cas du glutathion (GSH) dont on connaît le rôle de protection dans le sang sans pouvoir en expliquer le mécanisme.

Pour certains auteurs le glutathion bloque les oxhydriles de l'acide ascorbique et forme avec lui un complexe qu'on n'a pu ni isoler, ni mettre en évidence étant données les très petites quantités de substance dont on dispose. Pour d'autres (14) l'acide déhydroascorbique, formé par oxydation de l'acide ascorbique, est à chaque instant réduit par le glutathion et l'acide ascorbique régénéré.

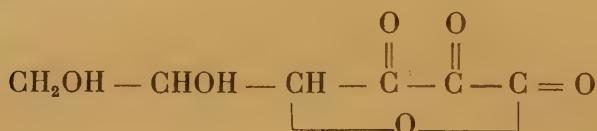
Dans ces conditions l'action protectrice du glutathion continue-t-elle à s'exercer lorsqu'on irradie la solution, telle est la question que nous nous sommes posée. ARCUS et SILVA [1] avaient montré, par dosage chimique, qu'en l'absence de glutathion la quantité d'acide ascorbique décomposée par irradiation après 4 heures et demie d'exposition était de 45 %, tandis qu'en présence du glutathion elle n'était que de 20 %.

Les résultats que nous avons trouvé, à la même époque, ont été différents. Nous avons en effet étudié l'action photochimique des radiations sur des solutions dont la teneur en glutathion variait de 1 à 4 molécules pour une molécule d'acide ascorbique (au-dessus de 4 molécules la solution devenant acide, le spectre d'absorption était modifié).

Après irradiation de ces solutions pendant 20 minutes, la bande (2650 Å) caractéristique de l'acide ascorbique avait complètement disparu. La présence du glutathion n'empêche donc pas l'action photochimique des radiations ultraviolettes.

4. Essai d'interprétation.

On sait que l'irradiation de ces solutions est un phénomène d'oxydation réversible. CHEVALLIER (9) a montré qu'en faisant passer un courant d'H²S, il retrouvait tout l'acide ascorbique dont il était parti. Le produit obtenu après irradiation est l'acide déhydroascorbique



qui n'est autre que l'acide ascorbique oxydé, KELLIE et SILVA [22] l'ont mis en évidence. Nous nous trouvons donc bien en présence d'une *véritable oxydation* ; mais cet oxygène qui intervient dans la réaction ne peut être de l'oxygène libre. Les auteurs précédents ont montré en effet que la destruction photochimique se produisait même lorsqu'ils opéraient à l'abri de l'air sur des solutions privées d'oxygène par ébullition d'eau bidistillée.

D'autre part, nous avons vérifié que l'oxygène dissous n'intervenait pas comme oxydant. Deux solutions préparées, l'une avec de l'eau bidistillée portée à l'ébullition pendant 20 minutes et refroidie à l'abri de l'air, l'autre avec de l'eau bidistillée ordinaire, ont été irradiées dans les mêmes conditions et ont donné les résultats suivants :

TABLEAU V

Temps d'irradiation (minutes)	$\log_{10} \frac{I_0}{I}$	
	eau bouillie	eau non bouillie
0.....	0,736	0,73
5.....	0,508	0,45
13.....	0,04	0,012

On peut trouver une première interprétation de l'action photochimique des rayons ultraviolets sur les solutions d'acide ascorbique dans les théories actuelles sur l'oxydation. Celle-ci résulterait du fait que un ou plusieurs électrons sont arrachés à la molécule : les radiations de longueur d'onde suffisamment faibles, comme la raie 1850, peuvent déterminer cet arrachement et par conséquent, provoquer l'oxydation.

Mais l'action des rayons ionisants (rayons ultraviolets ou rayons X) sur l'eau permet d'envisager une autre interprétation du phénomène.

En effet en 1911, TIAN [27] avait montré que sous l'action de la radiation 1850 de l'arc au mercure, 1854-57-61 de l'étincelle, entre électrodes d'aluminium, l'eau était décomposée en ses éléments et que ces radiations produisaient une véritable électrolyse, sans électrodes. Dans un premier processus, l'eau se peroxydait pour donner de l'eau oxygénée qui était à son tour décomposée par les radiations ultraviolettes. La réaction était réversible donc limitée, et on recueillait en définitive de l'hydrogène et de l'oxygène.

Plus récemment, LATARJET [23] et LOISELEUR [24] ont trouvé des résultats analogues en irradiant de l'eau avec des rayons X. Sous l'action des rayons ionisants l'eau se décomposerait en H_2 qui se dégagerait et O qui agirait sur l'eau pour former de l'eau oxygénée.

Il n'est donc pas impossible que nous nous trouvions en présence d'un mécanisme analogue lorsqu'il s'agit des solutions aqueuses d'acide ascorbique. L'oxygène provenant de la décomposition soit de l'eau pure soit secondairement de l'eau oxygénée formée, réagirait sur l'acide ascorbique pour l'oxyder.

Pour confirmer notre hypothèse, nous avons comparé les spectres d'absorption de solutions préparées l'une à partir d'acide ascorbique, irradié à l'état solide, l'autre avec de l'acide non irradié; l'acide pulvérisé, déposé en couche très mince entre deux lames de quartz avait été exposé pendant 48 heures à la lumière de la lampe à vapeur de mercure à basse pression, qui, en 10 minutes, détruit l'acide ascorbique en solution aqueuse à la concentration de 10^{-5} gr/cm³. Les spectres obtenus étaient identiques. L'acide à l'état solide n'est donc pas détruit par irradiation ultraviolette. Il semble donc bien que c'est l'eau qui intervient dans le processus de l'oxydation; ceci pourrait expliquer l'action des radiations de très courtes longueurs d'onde sur certaines substances organiques, photosensibles en solution aqueuse ou alcoolique.

DEUXIÈME PARTIE

POUVOIR ROTATOIRE

a) Variation en fonction du degré de saturation par la soude.

VLES et VELLINGER [35] ont montré que le pouvoir rotatoire de certains acides actifs comme l'acide malique, l'acide tartrique, variait lorsqu'on modifiait l'acidité des solutions ; il en est de même pour l'acide ascorbique dont HERBERT, HIRST et WOOD [31], puis LOWRY et PEARMAN [33] ont étudié le pouvoir rotatoire, constatant que ce pouvoir rotatoire est fortement exalté par addition de soude aux solutions étudiées. Leurs mesures étaient limitées à des solutions pour lesquelles 1,5 mol. de NaOH correspondait à 1 mol. d'acide ascorbique ; nous avons donc étendu le domaine d'investigation au delà de la neutralisation équimoléculaire [19].

Les mesures ont été effectuées au polarimètre Jobin et Yvon, pour les trois raies du mercure de longueur d'onde :

J 5780

V 5461

I 4358

avec une précision de $\frac{1}{100}$ de degré.

A un poids p d'acide ascorbique cristallisé, pesé au 1/10 mmg., nous avons ajouté des volumes croissants d'une solution moléculaire de soude et une trace d'hydroquinone pour empêcher l'oxydation.

Le tableau V donne les mesures de α , sous 10 cm., V étant exprimé en cm³, pour des solutions de concentrations 1/10 M en acide ascorbique.

TABLEAU V

x	0	0,5	1	1,3	1,5	1,7	2	2,5	3	4	5	7	9
α_1	0,39	1,29	2,12	2,13	2,16	2,38	2,40	2,55	2,59	2,62	2,65	2,68	2,72
α_v	0,45	1,49	2,44	2,47	2,50	2,71	2,79	2,97	3,02	3,06	3,07	3,15	3,15
α_2	0,62	2,63	4,51	4,57	4,62	—	5,32	5,74	5,30	5,90	6,00	—	—
$\rho = \frac{\alpha_1}{\alpha_2}$	1,59	2,03	2,12	2,13	2,13	—	2,21	2,25	2,27	—	2,26	—	—

α_1 n'a pu être mesuré pour les solutions riches en soude, la solution n'étant pas transparente à l'indigo.

La courbe qui représente ces résultats (fig. 10) a tout à fait l'allure d'une courbe de neutralisation, analogue à celle que l'on obtient en faisant varier l'absorption ultraviolette en fonction du pH ; le premier palier correspond à la formation du premier sel le second à la formation du sel neutre, obtenu en ajoutant 3 molécules de soude à une d'acide.

La courbe de dispersion rotatoire $\rho = \frac{\alpha_1}{\alpha_2}$ a la même allure.

Il apparaît donc qu'il y a deux dissociations et que la molécule d'acide ascorbique et ses deux anions

ont des rotations différentes, comme MALLEMANN [28] l'a supposé pour l'acide tartrique et les tartrates, la libération des ions H intervenant sur les propriétés des carbones asymétriques.

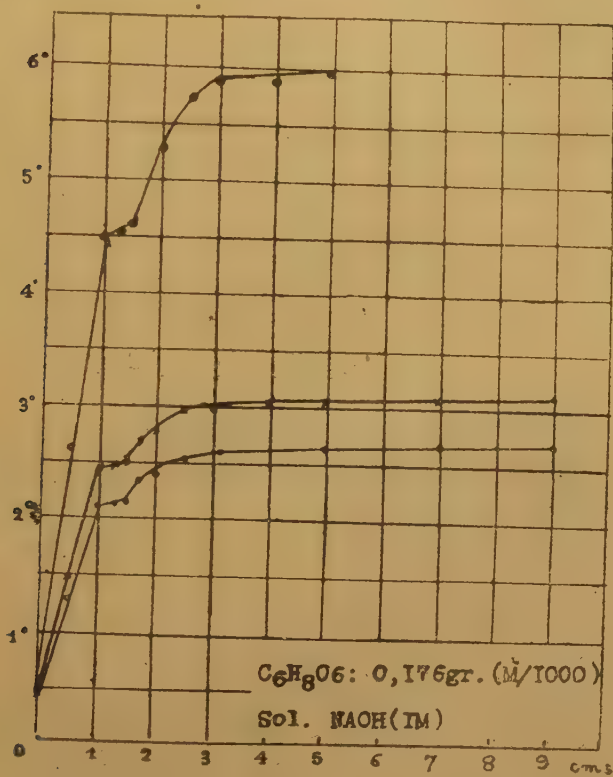


FIG. 10.

On peut donc se demander ici, comme nous l'avons déjà supposé pour l'absorption, si c'est la modification du potentiel ionique de la solution qui intervient pour faire varier le pouvoir rotatoire, ou bien, s'il faut admettre l'existence de plusieurs formes actives ayant chacune une rotation propre.

b) Variation en fonction de la longueur d'onde.

Le pouvoir rotatoire d'une substance active varie avec la longueur d'onde suivant une loi simple énoncée par BIOT.

$$\alpha = \text{Cte} / \lambda^2$$

Mais cette loi ne rend pas compte de tous les phénomènes : la formule de DRUDE les représente plus exactement en faisant apparaître la fréquence de résonnance λ_0 . Cette fréquence se trouve toujours dans la bande d'absorption de la substance :

$$\alpha = \pi D \frac{\lambda^2 - \lambda_0^2}{(\lambda^2 - \lambda_0^2)^2 + K^2 \lambda^2}$$

En dehors de la bande d'absorption la différence $\lambda^2 - \lambda_0^2$ est grande vis-à-vis de $K^2 \lambda^2$ qu'on peut négliger. La dispersion est alors représentée par la relation suivante :

$$\alpha = \frac{\text{Cte}}{\lambda^2 - \lambda_0^2}$$

Si la substance active possède plusieurs bandes, chacune d'elle peut agir séparément et le pouvoir rotatoire est alors exprimé au moyen d'une formule composée de plusieurs termes, positifs ou négatifs, chacun d'eux étant dû à une bande active de la substance.

Nous avons représenté la variation du pouvoir rotatoire en fonction de la longueur d'onde dans le spectre visible par les courbes de la figure 11 où α

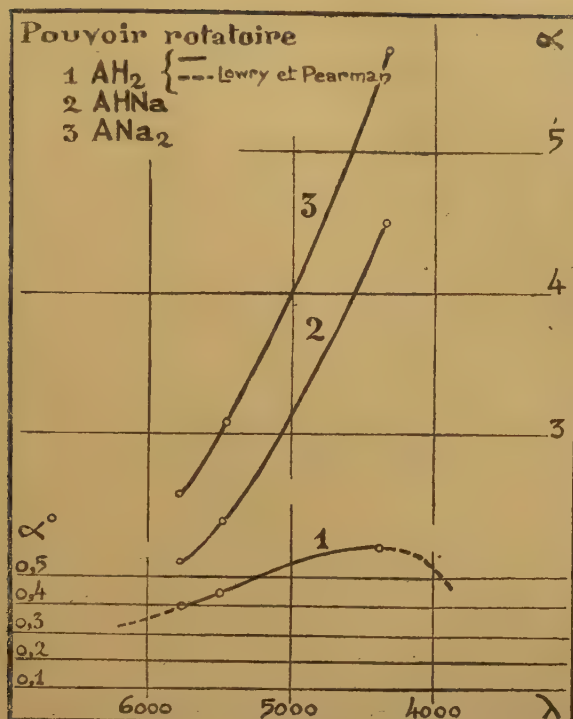


FIG. 11.

représente le pouvoir rotatoire spécifique de l'ion actif (1).

λ	5780	5461	4368
$[\alpha]$	22016	25057	35022
$[\alpha]'$	121,1	139,4	257,7
$[\alpha]''$	149,4	173,5	333,3

La présence d'un maximum dans la courbe 1, de la figure 11, indique que le pouvoir rotatoire change de signe, probablement dans l'ultraviolet ; la dispersion rotatoire est « anormale », alors que pour les deux sels elle est simple.

1. La partie de la courbe en pointillé indique les résultats de LOWRY et PEARMAN [23].

Si nous rapprochons ces résultats de ceux obtenus dans l'étude de l'absorption, nous constatons que, lorsque le pH augmente, le pouvoir rotatoire augmente tandis que le centre de la bande se déplace vers les grandes longueurs d'onde.

Nous avons donc calculé la dispersion rotatoire, $\rho = \frac{\alpha_r}{\alpha_i}$ pour l'acide ascorbique et ses deux sels, à partir de la formule indiquée plus haut, en prenant pour λ_0 les valeurs de λ_m , au centre de la bande, ces valeurs correspondant aux paliers de la courbe $\alpha = f(\text{pH})$

$$\lambda_m = 2980 \qquad \lambda'_m = 2650 \qquad \lambda''_m = 2410$$

Dans le tableau VI nous avons comparé les résultats obtenus par le calcul avec ceux que l'expérience nous a donnés :

TABLEAU VI

λ_0	2410	2650	2950
ρ calc.	2,102	2,204	2,404
ρ obs.	1,59	2,12	2,25
ρ calc. - ρ obs.	0,819	0,084	0,154

L'écart entre $\rho_{\text{calc.}}$ et $\rho_{\text{obs.}}$ peut provenir de ce que les fréquences de résonance ne coïncident pas toujours avec le maximum de la bande d'absorption. Il se peut aussi que la formule à un terme que nous avons adoptée pour représenter le pouvoir rotatoire ne rende pas parfaitement compte des faits ; l'écart

observé est en effet plus important pour la molécule non dissociée pour laquelle, nous l'avons vu, la dispersion est anormale. La contribution apportée par la bande d'absorption intense dans l'ultraviolet lointain (région de Schumann) n'est peut-être pas négligeable dans ce dernier cas.

c) Variation en fonction de la concentration.

Les mesures précédentes ont toutes été effectuées à la même concentration de 1/10 M par litre ; nous n'avons pas étudié d'une façon systématique la variation de la rotation en fonction de la concentration, mais notre étude serait incomplète si nous n'en disions quelques mots.

Des résultats de LOWRY [33] consignés dans le tableau VII, il ressort que le pouvoir rotatoire spécifique diminue lorsque la concentration croît.

TABEAU VII

gr/100	Concentration		Pouvoir rotatoire			$\rho = \frac{\alpha_1}{\alpha_s}$
	gr/cm ³	Mol/l	$[\alpha]_T$	$[\alpha]_T$	$[\alpha]_T$	
10	10 ⁻¹	0,56	21°10	22°90	27°65	1,30
4,47	4,47 · 10 ⁻²	0,25	21,73	23,40	30,80	1,41
2,23	2,23 · 10 ⁻²	0,12	22,66	24,22	33,85	1,49
1,43	1,43 · 10 ⁻²	0,08	23,48	25,43	36,15	1,59
0,6	0,6 · 10 ⁻²	0,034	25,47	27,92	37,23	1,46

Ces résultats ne semblent pas en accord avec ceux que nous avons trouvés dans l'étude de l'absorption ultraviolette ; la loi de Beer était alors vérifiée pour

des solutions de même concentration que celles mentionnées ci-dessus.

Cet écart peut être dû à la variation de pH lorsqu'on fait varier la concentration : lorsque celle-ci augmente, le pH diminuant, il en résulte bien comme nous l'avons vu plus haut, une diminution du pouvoir rotatoire. Il est possible aussi qu'il y ait réellement un effet de concentration : l'activité optique étant très sensible aux influences extérieures et par conséquent à l'influence du solvant, permet en effet des déterminations plus précises que celles fournies par les autres méthodes optiques.

d) Action du borate de soude sur l'acide ascorbique.

On sait que lorsqu'on ajoute de l'acide borique à des corps actifs possédant plusieurs fonctions alcools (sucres, glycérine, acide tartrique, acide malique), leur pouvoir rotatoire est considérablement augmenté. M. DARMOIS a montré qu'il se formait des complexes qu'on ne peut pas toujours isoler, mais dont on peut déterminer la constitution au moyen de différentes techniques. C'est ainsi que nous avons été amenés à étudier l'action du métaborate de soude (BO^2Na), plus actif que l'acide borique, sur l'acide ascorbique [16].

A un poids fixe d'acide ascorbique cristallisé, on ajoutait des volumes x croissants de solutions de BO^2Na (1 Mol/l), préparée à partir d'acide borique et de NaOH en quantités convenables. On a observé tout

d'abord une augmentation de pouvoir rotatoire, puis un palier correspondant à la formation du premier sel : l'acide ascorbique déplace l'acide borique. Lorsqu'on continue à ajouter du métaborate, la courbe

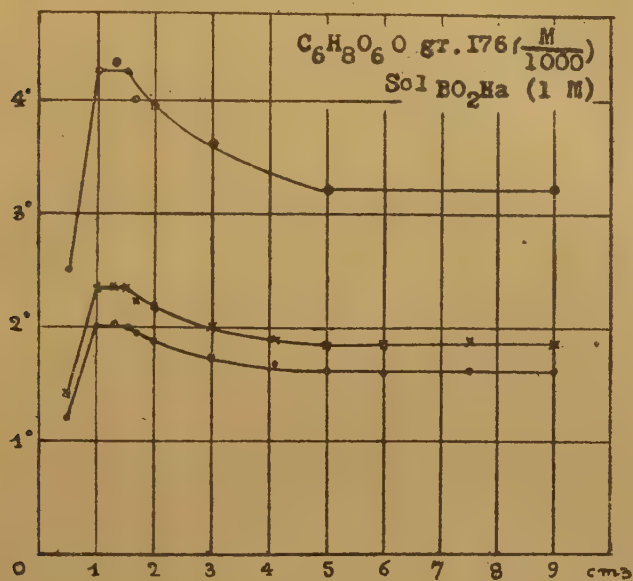


FIG. 12.

$\alpha = f(x)$ (fig. 12) décroît et présente un nouveau palier ; les valeurs de α résumées dans le tableau VIII

TABLEAU VIII

x	0,5	0,8	1	1,3	1,5	1,7	2	3	4,1	5	6	7,5	9
α_1	1,24	1,71	2,02	2,03	2,02	1,95	1,90	1,76	1,68	1,62	1,60	1,62	1,60
α_v	1,44	1,98	2,34	2,35	2,34	2,25	2,20	2,02	1,93	1,85	1,85	1,88	1,84
α_t	2,48	3,60	4,24	4,34	4,26	4,09	3,94	3,60	3,37	3,21	3,19	—	3,22
φ	2,00	2,10	2,09	2,13	2,10	2,09	2,07	2,04	2,00	1,98	1,99	—	—

sont nettement inférieures à celles que l'on obtient par addition de quantités équivalentes de soude. Ce palier met donc en évidence la présence d'un composé défini de pouvoir rotatoire inférieur à celui du sel de sodium.

Pour confirmer nos résultats et étudier la composition de ce complexe, nous avons appliqué la méthode des variations continues de Job [32] au mélange ascorbate, borate. Des solutions équimoléculaires (concentrations 0,6M) d'ascorbate de soude et de métaborate ont été préparées et étudiées suivant la technique habituelle : à x cm₃ d'une solution d'ascorbate on ajoute $10 - x$ cm₃ de BO²Na (tableau IX, fig. 13).

TABEAU IX

x	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
α_2	0,99	2	3,04	4,20	5,36	6,72	8,12	9,58	11,17	12,71
α_1	1,13	2,27	3,48	4,81	6,12	7,70	9,30	10,99	12,84	14,62
α_1	1,94	4,90	6,00	8,34	10,75	13,60	16,59	19,82	23,26	26,76
ρ	1,96	2,45	1,97	1,98	2	2,02	2,04	2,06	2,08	2,10

On voit que α ne varie pas linéairement en fonction de x . Si l'on note, en fonction de x , les écarts entre la droite en pointillé et la courbe de la figure 13, on observe un écart maximum pour $x = 5$, ce qui correspond à des parties égales d'ascorbate et de borate, il y a donc formation d'un complexe de Biot-Gernz répondant à la formule $AHNa, BO^2Na$ (A représentant l'ion ascorbique $C_6H_6O_6$).

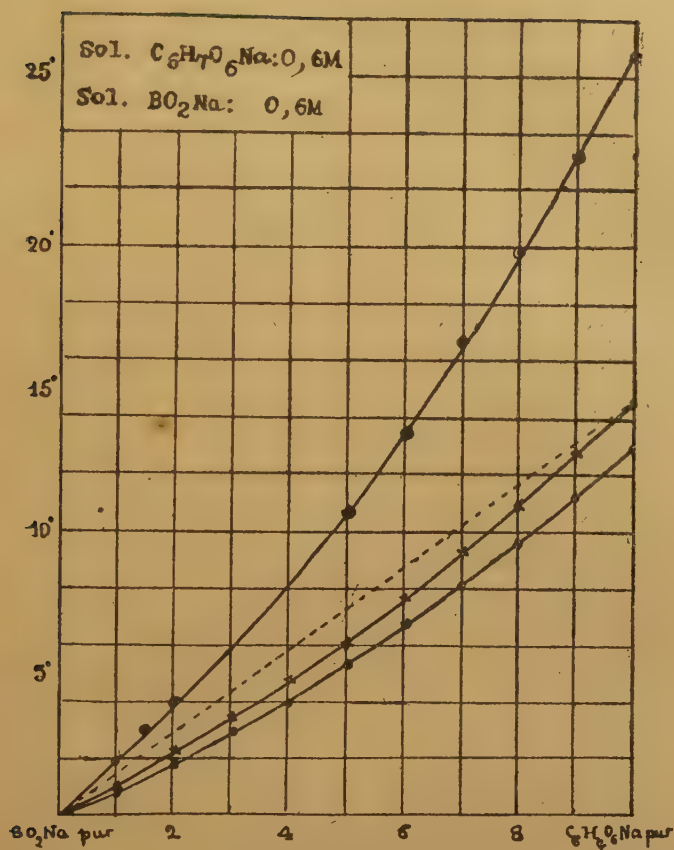


FIG. 13.

Pour des solutions d'ascorbate de concentration 0,6 M et BO_2Na : 0,3 M le maximum se trouve alors déplacé dans le sens des quantités croissantes de BO_2Na ($x = 4$; 10 — $x = 6$).

Comme le pouvoir rotatoire de l'ascorbate varie linéairement avec la concentration et que celui du métaborate est nul, on peut appliquer la méthode des variations continues (32) pour déterminer la

composition maxima de ce complexe. On sait, en effet, que lorsqu'un complexe prend naissance dans un milieu, la réaction d'équilibre s'écrit :



La constante
$$K = \frac{[A]^m [B]^n}{[A^m B^n]}$$

peut être déterminée en fonction des concentrations Γ et $\Gamma' = p\Gamma$ des solutions B et A par la relation suivante :

$$K [n - (m + n)x] = \frac{\Gamma^{m+n-1} p^{n-1}}{m^{n-1} \cdot n^{m-1} (p-1)^{m+n-1}} [pm + n)x - n]^{m+n}$$

où x représente le volume de la solution d'ascorbate de soude correspondant à la composition maxima

$$\begin{array}{llll} B = \text{BO}_2\text{Na} & \Gamma = 0,3 \text{ M} & n = 1 & 1 - x = 0,6 \\ A = \text{C}_6\text{H}_7\text{O}_6\text{Na} & \Gamma' = 0,6 \text{ M} & p = 2 & x = 0,4 \end{array}$$

Nous en tirons pour K la valeur :

$$K = 0,06$$

Le calcul de K permet de déterminer la concentration maxima Z du complexe, dans le cas de solutions équimoléculaires

$$\text{Concentration de A} = 0,3 - Z$$

$$\text{Concentration de B} = 0,3 - Z$$

En appliquant la loi d'action de masse, il vient :

$$(0,3 - Z)(0,3 - Z) = KZ$$

$$\text{D'où } Z = 0,19$$

On peut se demander quelle formule développée attribuer à ce complexe, l'ion BO_2 pouvant se fixer soit sur deux OH voisins soit sur un groupement carbonyle ou carboxyle et un OH voisins. La formation du sel monosodique lorsqu'on ajoute BO_2Na à l'acide ascorbique, fait penser que c'est bien à partir du groupement $\text{C}=\text{O}$ s'ionisant en solution, que se forme le sel, l'ion BO_2 bloquant ensuite les deux oxhydriles que leur position par rapport à la double liaison doit rendre acides. Nous verrons plus loin, comment ces conclusions sont confirmées par l'étude de l'effet Raman.

TROISIÈME PARTIE

EFFET RAMAN

L'effet Raman, a été souvent utilisé pour étudier la dissociation électrolytique, les ions ayant des fréquences propres caractéristiques différentes de celles des molécules dont ils dérivent. Pour compléter notre étude physico-chimique de l'acide ascorbique et son comportement en solution il nous a paru indispensable d'en faire le spectre Raman, à l'état cristallisé, puis en solution acide et neutre.

EDSALL [38] avait déjà fait le spectre de la solution aqueuse de l'acide et de ses sels et constaté l'existence d'une large bande dont le maximum était déplacé de 1703 à 1590 cm^{-1} lorsqu'on passait de l'acide au sel.

I. — Dispositif expérimental et technique.

Nous disposions d'un spectrographe Cojan à deux prismes de flint de 60° (hauteur 8 cm.), ouvert à $f/5$ dont la dispersion était de 18 à 20 Å dans la région étudiée. La source de lumière était un arc à vapeur de mercure (GALLQIS) fonctionnant sous 80 volts et

5 ampères. Un condenseur ouvert à $f/1$ formait une image de la source au centre de la cuve. Le faisceau diffusé à angle droit par le milieu étudié (solution ou cristaux) était projeté sur la fente du spectrographe.

Lorsque nous avons voulu étudier l'état de polarisation nous avons modifié notre montage suivant la méthode indiquée par CABANNES et ROUSSET [37] (fig. 14) ; nous projetions alors au moyen d'une len-

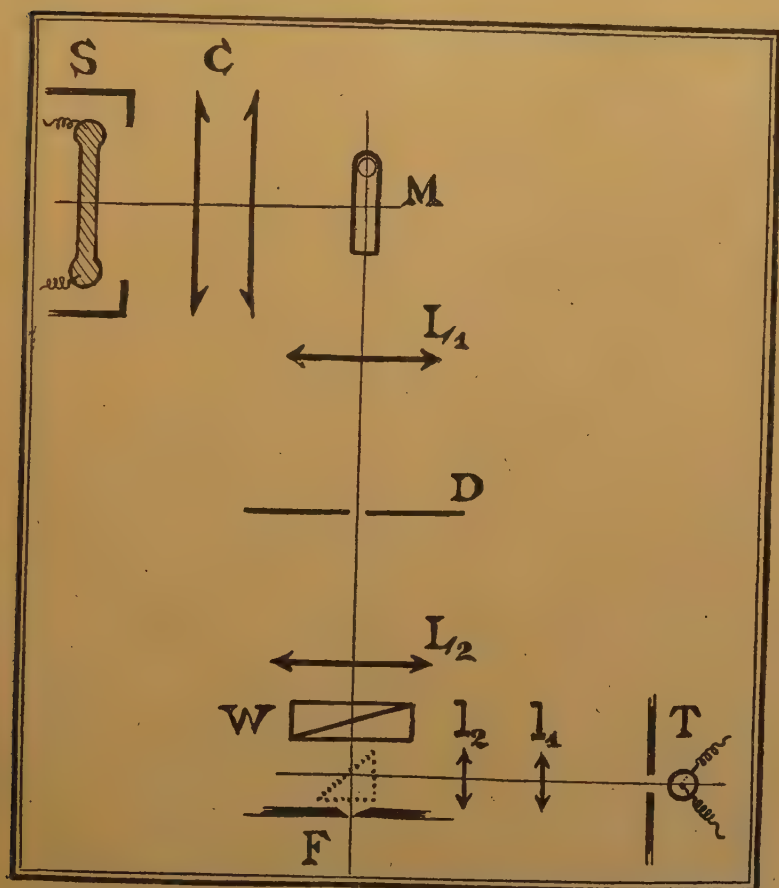


FIG. 14.

tille L_1 l'image du faisceau diffusé sur un diaphragme circulaire D qui délimitait le faisceau. L'image de ce diaphragme était projeté en vraie grandeur sur la fente (au moyen d'une seconde lentille ?) ; le faisceau diffusé était dédoublé par un prisme de wollaston W placé en avant de la fente du spectrographe. Comme les vibrations polarisées à angle droit, l'une parallèle et l'autre perpendiculaire à l'arête du prisme, ne sont pas transmises par le spectrographe avec la même intensité, il est nécessaire pour rétablir l'égalité des intensités des spectres d'introduire une lame de mica demi-onde dont les lignes neutres soient à $22^{\circ}5$ des directions du wollaston.

Pour pouvoir faire des mesures quantitatives nous avons fait des spectres d'étalonnage en utilisant une source de comparaison dont l'intensité pouvait être réduite dans un rapport donné au moyen de grilles de densités connues ; la méthode photométrique permet alors de mesurer le rapport i/I , i et I étant les intensités des vibrations diffusées, l'une parallèle au plan de diffusion et l'autre perpendiculaire à ce plan.

Nous avons utilisé comme sources d'étalonnage des lampes à incandescence dont l'intensité lumineuse tombait très rapidement dans le bleu ; nous nous sommes alors servis d'un tube luminescent du type Servigne et Vassy (41) fonctionnant sous 1.000 volts, 50 mA : les substances phosphorescentes en avaient été dosées spécialement pour donner une répartition énergétique à peu près constante dans la région qui nous intéressait.

Comme il ne s'agit bien entendu que de mesures relatives, le temps de pose de ces spectres, différent de celui des spectres diffusion, était arbitrairement choisi de telle sorte que les densités des raies puissent être mesurées au moyen des grilles.

Réglages. — Par la méthode du retour inverse de la lumière, en plaçant dans le plan du spectre une source étendue de lumière blanche, on vérifie que l'image dédoublée de la fente du spectrographe tombe bien à l'intérieur du faisceau primaire.

Pour le réglage du wollaston et de la lame, on place une source en M. La distance du prisme par rapport à la fente a été déterminée de telle sorte que les deux images du diaphragme D sur la fente F soient distinctes. Après avoir vérifié que les arêtes du prisme sont horizontales, c'est-à-dire parallèles au plan de diffusion, on règle l'orientation de la lame $1/2$ onde par rapport au prisme. Pour cela nous avons utilisé le procédé suivant :

un nicol est placé entre F et W, en l'absence de la lame et orienté de telle sorte que l'une des deux images données par W soit éteinte. La lame est alors placée entre le nicol et le wollaston et orientée par rapport à ce dernier de telle sorte que l'extinction subsiste. La lame a alors ses lignes neutres parallèles aux sections principales des prismes ; il suffit alors de faire tourner la lame de $22^{\circ}5$ à partir de cette position fixe. Ce réglage ne peut pas être très rigoureux puisque la lame n'est demi-onde que pour la radiation $4560 \text{ \AA}$

et que la source de lumière n'est pas monochromatique. Aussi pour le parachever avons-nous fait un certain nombre de spectres, pour différentes orientations de la lame de part et d'autre de la direction répétée expérimentalement et nous avons choisi la position qui donnait deux spectres d'égale intensité.

Filtres. — Pour obtenir le spectre Raman dans une région où les raies du mercure ne soient pas gênantes, on éclaire soit avec la raie 4047 Å, soit avec la raie plus intense 4358 Å. Pour les solutions nous avons utilisé l'une et l'autre de ces radiations, ce qui nous a permis de contrôler nos résultats. Pour isoler ces raies, il suffisait de placer sur le faisceau primaire un filtre liquide formé d'une solution de $\text{NO}^2 \text{ K}$ (50 %) pour 4358 ou de $\text{CCl}^4 + \text{I}$ pour 4047.

Dans le cas des cristaux on observe une fluorescence particulièrement intense entre 4358 et 4916 Å, ce qui rend toute mesure impossible dans cette région ; aussi avons-nous excité seulement avec 4047, utilisant la méthode des filtres complémentaires (36) qui nous a donné de très bons résultats. Une solution d'iode dans CCl^4 , sous 2,5 cm. ne transmet que les radiations de longueur d'onde inférieure à 4047, et un filtre au nitrite sur le faisceau secondaire absorbe la raie excitatrice, diminuant la lumière diffusée par le spectrographe. Le problème qui se posait était de doser convenablement les filtres à l'iode pour ne pas augmenter inutilement le temps de pose. Nous avons donc mesuré leur opacité au spectrophotomètre à cellule.

La concentration C étant exprimée en grammes pour 100 cm³ de solution, le tableau suivant donnant l'opacité I₀/I pour différentes radiations et différentes concentrations :

λ	4047	4350	4400
C			
0,7	7	40 [*]	5,3.10 [*]
0,5	4	3,7.10 [*]	6,3.10 [*]
0,25	2	6.10	2,5.10 [*]

En réduisant encore la concentration en iode du dernier filtre la fluorescence reste faible, cependant l'intensité de la raie 4538 est suffisante pour donner des raies Raman qui, excitées par 4047, seraient confondues avec le triplet 4358 du mercure.

Avec un jeu de filtres : iode, 0,5% et NO₂K 50%, les temps de pose pour les cristaux variaient de 150 à 200 heures suivant que nous opérons avec l'un ou l'autre des montages décrits précédemment.

Des expériences récentes nous ont montré qu'on avait avantage dans le cas des cristaux à utiliser la lampe « en bout », l'axe de l'arc étant perpendiculaire à la cuve : le temps de pose est ainsi réduit de 154 à 84 heures.

Plaques. — Les plaques utilisées étaient des plaques Superfulgur Guilleminot spéciales pour effet Raman.

Repérage des raies. — Le spectrographe a été étalonné au moyen de l'arc au fer. L'enregistrement microphotométrique permettait par comparaison avec la courbe d'étalonnage le repérage des raies, mais

dans la plupart des cas, le spectre de diffusion étant encadré par les spectres de l'arc au fer, nous lisions directement au comparateur la position des raies comprises entre deux raies du fer. La lecture se faisait à 1 Å près.

Substances étudiées. — Les solutions d'acide ascorbique étaient préparées à partir de la poudre cristalline dissoute dans de l'eau bidistillée bouillie : la concentration était d'environ 1 molécule/litre ce qui correspond à la limite de solubilité à la température ordinaire (15°). A cette concentration l'acide ascorbique en solution est stable. Nous n'avions pas à craindre une altération due à une exposition prolongée à la lumière puisque nous avons vu précédemment que seules les radiations inférieures à 2.200 Å étaient chimiquement actives ; or, ces radiations sont absorbées par le verre de nos lentilles.

L'acide ascorbique nous était fourni par la maison Hoffmann-Laroche sous forme de microcristaux. Pour obtenir des cristaux plus gros nous avons utilisé le procédé indiqué par M. MENTZER : 30 gr. d'acide ascorbique était dissous dans 100 cc. d'eau bidistillée et porté à la température de 90° au bain-marie. Puis la solution était filtrée sur du charbon animal qui avait subi une préparation spéciale (1), ce charbon adsorbe les impuretés. La solution filtrée était placée dans un dessiccateur avec de l'anhydride phosphorique ; par

1 On l'avait fait bouillir avec de l'acide chlorhydrique concentré puis soigneusement lavé à l'eau distillée, bidistillée et séché à l'étuve à l'abri de l'air.

évaporation lente, on obtenait au bout de quelques jours des cristaux de dimensions convenables.

Nous les avons triés à la pince, choisissant les plus gros et les plus réguliers. Leurs dimensions n'étaient cependant pas suffisantes pour que l'on puisse faire le spectre d'un cristal unique. Les cristaux étaient donc placés dans une petite cuve (6 mm. de diamètre, 5 cm. de long).

Nous avons étudié successivement des cristaux que nous avait fourni M. MENTZER, et ceux que nous-mêmes avons préparés suivant sa technique, ces derniers étaient d'ailleurs plus gros. Pour les premiers, il était avantageux de former l'image de la source le plus près possible de l'extrémité avant du tube Raman, pour que la lumière diffusée ne fût pas réduite par la traversée d'une épaisseur trop grande des petits cristaux.

•II. — Résultats expérimentaux.

Les spectres que nous obtenions, comme ceux des substances organiques en général étaient très riches en raies, mais dans le cas des solutions ces raies quoique très intenses, étaient souvent noyées dans un fond continu que nous ne pouvions éviter malgré l'emploi des filtres.

Dans le tableau ci-dessous (Tableau X), nous avons porté les résultats obtenus avec l'acide ascorbique (AH_2), cristallisé et en solution, et avec son sel de sodium ($AHNa$); nous y avons ajouté ceux relatifs à l'acide tartrique dans les mêmes conditions, ces deux

TABLEAU X

$\Delta\nu \text{ cm}^{-1}$																
AH ₂ cr.	590	634	662	827	874		1.133 <i>d</i>	1.259 <i>d</i>	1.297	1.318,6 <i>d</i>		1.654	1.706 <i>d</i>	2.917		
sol			665	697	827 <i>p</i>	874	941,3 <i>d</i>	1.045,5 <i>d</i>	1.155 <i>d</i>	1.219	1.289 <i>d</i>	1.344 <i>p</i>	1.461	1.652 bande <i>d</i>	1.706 bande <i>d</i>	2.934
AHNA sol													1.590 bande			
TH ₂ cr.															1.745	
sol	523	588	677	750	831	892	986	1.093	1.132		1.266	1.387	1.444		1.732	
TK ₂ sol														1.610		

p = polarisée
d = dépolarisée

p = polarisée*d* = dépolarisée

acides présentant des analogies déjà rencontrées au cours de ce travail. Ces résultats ont été empruntés pour l'acide tartrique et son sel en solution à PEYCHES [40] et à Mlle THÉODORESCO [43], pour l'acide cristallisé à TABOURY [32].

Nous n'avons pu faire qu'une étude qualitative de la polarisation : le fond continu dans lequel étaient noyées les raies ne nous permettait pas de faire des mesures d'intensité. Nos résultats sont cependant mentionnés dans le tableau précédent.

La figure 15 nous montre que les spectres des

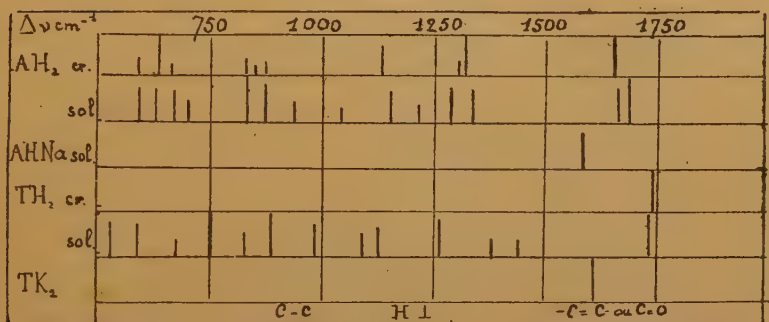


FIG. 15.

acides cristallisé et en solution sont peu différents, ce qui indique des structures moléculaires très voisines dans le cristal et dans la solution. Cependant dans le cristal les raies nous ont paru complètement dépolarisées alors que dans la solution quelques-unes apparaissent partiellement polarisées.

Pour les fréquences inférieures à 900 cm⁻¹ les raies coïncident dans les deux spectres. Il n'en est plus de

même pour les fréquences comprises entre 900 et 1100, attribuées aux oscillations de valence —C—C— et celles comprises entre 1100 et 1300 correspondant aux oscillations de déformation CH. La présence de la double liaison éthylénique —C=C— donne naissance dans le cristal à une raie intense de fréquence 1654 ; cette raie dans la solution était confondue avec le début de la bande due aux vibrations C=O ; seul l'enregistrement microphotométrique nous a permis de la mettre en évidence et de déterminer sa position à 1652 cm^{-1} .

Mais ce qui est surtout remarquable, c'est le fort déplacement de la large bande due aux vibrations C=O , lorsqu'on passe de l'acide au sel dissous ; le maximum de la bande passe de 1706 à 1590 cm^{-1} . Ce fait déjà observé par les auteurs précédemment cités pour l'acide tartrique a été généralisé pour un grand nombre de sels par LECOMTE [37].

On peut admettre qu'il y a mésomérie, c'est-à-dire que la molécule non saturée peut prendre une ou plusieurs formes voisines modifiant l'arrangement électronique tout en respectant le principe de l'octet ; la molécule passe alors périodiquement d'une forme à l'autre avec une fréquence (10^{15} par seconde), telle que les noyaux ne suivent pas le mouvement. Il en résulte, par résonance, une molécule plus stable et généralement plus symétrique que dans chacun des états limites qui sont entrés en résonance ; nous les représentons ci-après :



On explique ainsi la disparition de la fréquence caractéristique du groupement carboxyle de l'acide (1700-1750) et l'apparition d'une nouvelle fréquence (1600-1650) dans le sel ionisé.

Comme dans l'acide ascorbique nous retrouvons le même déplacement de la bande de 1700 à 1590 lorsqu'on passe de l'acide au sel, nous pouvons penser que c'est sur le groupement $\text{C} = \text{O}$ que se fait la première saponification (la seconde étant attribuée à l'un des OH voisins de la double liaison éthylénique) ; tandis qu'une dissociation provenant de ces OH, comme on l'admet généralement, ne modifierait en rien la structure de la molécule et le spectre Raman devrait être le même dans l'acide et dans les sels.

Notre hypothèse est d'ailleurs confirmée par la formation du complexe borique étudié en polarimétrie.

CONCLUSION

De notre étude sur l'acide ascorbique, il résulte donc que, lorsqu'on fait varier le pH de la solution le déplacement de la bande caractéristique dans l'ultraviolet, la variation correspondante du pouvoir rotatoire et l'apparition de nouvelle fréquence dans le spectre Raman doivent avoir la même cause et être dues à une modification de la structure électronique dans la molécule, par suite de l'ionisation.

Ces résultats permettent de penser que c'est sur le groupement $C = O$ qu'a lieu la saponification de l'acide pour le premier sel, sur l'un des OH en 2-3 pour le second. L'attribution, généralement admise, des deux acidités à ces OH expliquerait en effet le déplacement de la bande ultraviolette par apparition de nouvelles forces électrostatiques et la variation du pouvoir rotatoire par la dissymétrie qu'introduit la libération des ions H , mais ne rendrait absolument pas compte du changement de fréquence dans le spectre Raman. La formation du complexe borique entre le sel acide de sodium et BO_2NA , semble bien confirmer notre hypothèse.

L'extension du domaine de validité de la loi de

Beer, dans un intervalle de concentration de 10^{-6} à $2 \cdot 10^{-1}$ gr/cm³, en milieu neutre, a pu être réalisée grâce à l'emploi d'une technique spéciale qui a permis en outre d'étudier l'absorption de l'acide cristallisé.

Cette validité est une base sûre pour le dosage et montre d'autre part que le solvant n'a aucune action sur l'ion chromophore. En milieu acide, la loi de Beer n'est plus vérifiée pour la concentration de 1,6 Mol/l : il apparaît une bande dont le maximum à 2264 Å correspond à celui de l'acide à l'état solide et qui est due à la molécule non ionisée.

Enfin, après avoir réalisé un montage simple nous permettant d'obtenir rapidement (10 minutes) la destruction photochimique des solutions d'acide ascorbique, base même de la méthode de dosage, nous avons isolé le groupe de radiations actives : 1850 Å environ. Il est probable que cette radiation produit une oxydation des solutions soit directement, soit par l'intermédiaire de l'eau dont l'oxygène est mis en liberté sous l'action des rayons ionisants. Ce mécanisme pourrait donc expliquer l'action des rayons ultraviolets sur certaines substances organiques photosensibles en solution aqueuse.

BIBLIOGRAPHIE

PREMIÈRE PARTIE

Absorption ultraviolette.

1. ARCUS (C. L.) et ZILVA (S. S.). — *Biochem. J.*, 1940, 34, 616.
2. BAIRD, HAWORTH, HERBERT, HIRST, SMITH et STACEY. — *J. Chem. Soc.*, 1934.
3. BERSIN, KOSTER et JUSATZ. — *Z. Physiol. Chem. B.* 235, 12.
4. BOWDEN et SNOW. — *Nature. Lond.* 1932, 129, 720.
5. CARPENI. — Thèse Faculté des Sciences de Paris, 1938.
6. — *C. R. Paris*, 1918, 206, 1571.
7. CHALONGE et LAMBERT. — *Rev. Opt. (théor. instr.)*, 1920, 5, 404.
8. CHALONGE et LAMBREY. — *Rev. Opt. (théor. instr.)*, 1929, 8, 340.
9. CHEVALLIER et CHORON. — *Bull. Soc. Chim. Biol. Paris*, 1936, 18, 757.
10. CHEVALLIER et DUBOULOZ. — *J. Physiol. Path. gén.*, 1935, 33.
11. CHEVALLIER, DUBOULOZ et ROUX. — *Rev. Opt. (théor. instr.)*, 1937, 16, 28.
12. DUCLAUX et JANTET. — *J. Phys. Radium*, 1921, 2, 156.
13. FABRY et BUISSON. — *J. Phys. Radium*, 1913, 3, 197.
14. GENEVOIX et CAYROL. — *Enzymologia*, 1939, 6, 352.

15. GUILMART (Mme) et FREYMAN. — *Rev. Opt.* (théor. instr.), 1938, 199.
16. GUINAND (Mlle S.). — Dipl. Et. Sup. Faculté des Sciences de Paris, 1938.
17. — *C. R. Paris*, 1941, 213, 1003.
18. — *C. R. Paris*, 1943, 216.
19. GUINAND (Mlle S. et NICOLLE J.). — *C. R. Paris*, 1938, 206, 105.
20. GUINAND (Mlle S.) et VODAR (B.). — *C. R. Paris*, 1941, 213, 526.
21. HERBERT, HIRST, PERCIVAL, REYNOLDS et STACEY. — *J. Chem. Soc.*, 1934.
22. KELLIE et ZILVA (s. s.). — *Biochem. J.*, 1940, 32, 616.
23. LATARJET et LOISELEUR. — *C. R. Paris*, 1942, 214, 73.
24. LOISELEUR. — *C. R. Paris*, 1942, 214, 72.
25. SOULIER (Mlle A.). — Dipl. Et. Sup. Paris, 1941.
26. TRÉHIN. — *Ann. Phys. Paris*, 1936, 5, 444.
27. TIAN. — *C. R. Paris*, 1 11, 152, 1483.
28. VACHER et LORTIE (Mlle). — *C. R. Paris*, 1941, 213, 726.
29. VODAR et DELIVRE (Mlle). — *Soc. Franç. Phys.*, 19 fév. 1942.
30. WURMSER et LOUREIRO. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, Paris, 1936, 18, 757.

DEUXIÈME PARTIE

Pouvoir rotatoire.

31. HERBERT, HIRST et WOOD. — *J. Chem. Soc.*, 1933, 152.
32. JOB. — *Ann. Chim.*, 1928, 9.
33. LOWRY et PEARMAN. — *J. Chem. Soc.*, 1933, 1444.
34. MALLEMANN (DE). — *C. R. Paris*, 1921, 173, 474.
35. VLES et VELLINGER. — *C. R. Paris*, 1925, 180, 742.

TROISIÈME PARTIE

Effet Raman.

36. ANANTHAKRISHNAN. — *Proc. Indian. Acad. Sci. (A.)*, 1937, 5, 423.
37. CABANNES et ROUSSET. — *Ann. Phys. Paris*, 1933, 19, 235.
38. EDSALL. — *J. Biol. Chem.*, 1936, 114, n° 1, XXVIII.
39. LECOMTE. — *C. R. Paris*, 1941, 212, 953.
40. PEYCHES. — *Ann. Phys. Paris.*, 1936, 5, 954.
41. SERVIGNE et VASSY. — *Rev. Opt. (théor. instr.)*, 1937, 16, 423.
42. TABOURY. — *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 1943, 10, 205.
43. THEODORESKO (Mlle M.). — Thèse Faculté des Sciences Paris, 1942.

DEUXIÈME THÈSE

Proposition donnée par la Faculté :

Microscope électronique.

Vu et approuvé :

Paris, le 22 octobre 1943.

Le Doyen de la Faculté des Sciences

PAUL MONTEL.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

Gilbert GIDEL.

